

Received: 15.12.2017  
Accepted: 03.07.2018  
Published: 12.11.2018

## Glikozylacja IgG w chorobach autoimmunizacyjnych\*

### IgG glycosylation in autoimmune diseases

Kamila Kozłowska, Magdalena Rydlewska, Marta Ząbczyńska, Ewa Pocheć

Zakład Biochemii Glikokonjugatów, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

#### Streszczenie

Przeciwciała klasy G są najobficiej występującymi glikozylowanymi białkami surowicy ludzkiej. Wszystkie cząsteczki IgG są N-glikozylowane we fragmencie Fc, a 10-30% zawiera również N-glikany dołączone do Fab. Fragment Fc IgG ma zachowane w toku ewolucji miejsce N-glikozylacji przy Asn297, do którego dołączony jest fukozylowany i/lub sjałowany dwuantenowy N-glikan typu złożonego. Glikozylacja odgrywa kluczową rolę w funkcjonowaniu przeciwciał, a odpowiednia budowa N-glikanów IgG zapewnia prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego. Glikany Fc są istotne dla funkcji efektorowych IgG, natomiast oligosacharydy Fab działają modulująco na powinowactwo przeciwciała do antygeny. Zmieniony profil glikozylacji IgG towarzyszy wielu chorobom u ludzi, w tym o podłożu autoimmunizacyjnym. Modyfikacja nawet jednej reszty cukrowej w strukturze N-glikanu może spowodować pobudzenie lub hamowanie odpowiedzi immunologicznej. Brak fukozy rdzennej nasila aktywność prozapalną IgG, natomiast zwiększenie sjałilacji powoduje wzrost właściwości przeciwzapalnych. Wykazano udział zmian glikozylacji Fc IgG w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów, toczenia rumieniowatego oraz choroby Leśniowskiego-Crohna. Stwierdzony w przebiegu tych chorób spadek galaktozylacji i sjałilacji przeciwciał aktywuje komórki efektorowe i uruchamia reakcje zapalne. Dokładna analiza zmian glikozylacji IgG i jej roli w patogenezie chorób autoimmunizacyjnych jest istotna w leczeniu tych schorzeń. W terapii chorób autoimmunizacyjnych wykorzystuje się przeciwciała terapeutyczne o właściwościach przeciwzapalnych wynikających z obecności  $\alpha$ 2,6-wiązanego kwasu sjałowego w cząsteczkach oligosacharydów IgG. Liczne badania poświęcone glikozylacji IgG dostarczyły dowodów na rolę tej modyfikacji potranslacyjnej w prawidłowym funkcjonowaniu przeciwciał oraz znaczenie zmian struktury N-glikanów IgG, głównie desjałilacji i niekompletnej galaktozylacji, w rozwoju chorób autoimmunizacyjnych. Kontynuacja tych badań może się przyczynić do wyjaśnienia mechanizmów ciągle słabo poznanego procesu autoimmunizacji.

#### Słowa kluczowe:

IgG • N-glikozylacja • choroby autoimmunizacyjne • reumatoidalne zapalenie stawów • toczень rumieniowaty układowy • choroba Leśniowskiego-Crohna

#### Summary

Immunoglobulin G (IgG) is the most abundant glycoprotein in human serum. All IgG subclasses have a single-conserved N-linked glycosylation site at Asn297 of the heavy chain and 10-30% of IgGs are N-glycosylated also in a Fab region. N-glycans of Fc are sialylated and fucosylated biantennary complex-type structures. Glycosylation plays a key role in antibody function,

\*Praca została przygotowana w ramach projektów badawczych finansowanych ze środków DSC przyznanych na działalność naukową i rozwojową młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich (K/DSC/002341, K/DSC/002986).

and IgG *N*-glycans are essential for the proper activity of the immune system. Fc glycans are important for IgG effector functions, whereas Fab oligosaccharides modulate antigen binding. Glycosylation changes of IgG are associated with the development of various human diseases, including autoimmune states. The modification of one sugar moiety in *N*-glycan structure may result in the stimulation or suppression of immune response. The lack of core fucose leads to the enhancement of pro-inflammatory activity, whereas an increase of sialylation determines immunosuppressive properties of IgG. The contribution of IgG Fc glycosylation changes has been demonstrated in the pathogenesis of rheumatoid arthritis, lupus erythematosus and Crohn's disease. A decrease in IgG galactosylation and sialylation, found in these diseases, activates effector cells and triggers inflammatory reactions. A detailed analysis of changes in IgG glycosylation and their effects on the development of autoimmune diseases is important in the treatment of these diseases. IgGs with modified  $\alpha$ 2,6-sialylation are used as therapeutic antibodies with anti-inflammatory properties. Numerous studies on IgG glycosylation have provided evidence of the role of this post-translational modification in the proper functioning of antibodies and the importance of changes in the structure of IgG glycans, mainly incomplete galactosylation and desialylation, in the pathogenesis of many diseases. The continuation of these studies may contribute to explaining the mechanisms of autoimmunity that is still poorly understood.

**Keywords:** IgG • *N*-glycosylation • autoimmune disease • rheumatoid arthritis • systemic lupus erythematosus • Crohn's disease

**GICID** 01.3001.0012.7351  
**DOI:** 10.5604/01.3001.0012.7351  
**Word count:** 9344  
**Tables:** –  
**Figures:** 3  
**References:** 89

**Adres autorki:** dr hab. n. biol. Ewa Pocheć, Zakład Biochemii Glikokoniugatów, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 9, 30-387 Kraków; e-mail: ewa.pochec@uj.edu.pl

**Wykaz skrótów:** **AAL** – lektyna izolowana z *Aleuria aurantia* (*Aleuria aurantia* lectin), **ACPA** – przeciwciała przeciwko cytrulinowym peptydom (anti-citrullinated protein antibody), **ADCC** – cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał (antibody-dependent cytotoxicity), **ADCP** – fagocytoza zależna od przeciwciał (antibody-dependent cellular phagocytosis), **AG** – aparat Golgiego (Golgi apparatus), **ANA** – przeciwciała przeciwjądrowe (anti-nuclear antibody), **ANCA** – autoprzeciwciała przeciw cytoplazmie neutrofilów (anti-neutrophil cytoplasm autoantibody), **APC** – komórka prezentująca antygen (antigen presenting cell), **ASCA** – przeciwciała przeciwko *Saccharomyces cerevisiae* (anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody), **Asn** – asparagina (asparagine), **BCR** – receptor limfocytów B (B-cell receptor), **C** – domena stała (constant domain), **CD** – choroba Leśniowskiego-Crohna (Crohn's disease), **CDC** – cytotoksyczność zależna od układu dopełniacza (complement-dependent cytotoxicity), **CDR** – region hiperzmienny (complementarity determining region), **CMP** – cytydyno-monofosforan (cytidine monophosphate), **DAMP** – wzorzec molekularny związany z uszkodzeniem (danger-associated molecular pattern), **DC-SIGN** – swoista dla komórek dendrytycznych nieintegryna wychwytyująca cząsteczkę adhezji międzykomórkowej 3 (dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin), **Dol-P** – ufosforylowany dolichol (dolichol phosphate), **Endo S** – endoglikozydaza S (endoglycosidase S), **ER** – siateczka śródplazmatyczna (endoplasmic reticulum), **Fab** – fragment wiążący antygen (antigen binding fragment), **Fc** – fragment krystaliczny (crystallizable fragment), **FcR** – receptor dla fragmentu krystalicznego (Fc receptor), **FR** – region zrębowy (framework region), **Fuc** – fukoza (fucose), **FUT8/Fut8** –  $\alpha$ 1,6-fukozylotransferaza ( $\alpha$ 1,6-fucosyltransferase), **GD** – choroba Gravesa-Basedowa (Graves' disease), **GBP** – białko wiążące glikany (glycan-binding protein), **Gal** – galaktoza (galactose), **GalNAc** – *N*-acetylogalaktozamina (*N*-acetylgalactosamine), **Glc** – glukoza (glucose), **GlcNAc** – *N*-acetyloglukozoamina (*N*-acetylglucosamine), **H** – łańcuch ciężki (heavy chain), **HT** – choroba Hashimoto (Hashimoto's thyroiditis), **IBD** – nieswoiste zapalenie jelit (inflammatory bowel disease), **IFN- $\alpha$**  – interferon  $\alpha$  (interferon  $\alpha$ ), **IgG** – immunoglobulina klasy G (immunoglobulin G), **IVIg** – dożylny preparaty immunoglobulin

(intravenous gammaglobulines), **L** – łańcuch lekki (light chain), **LCL** – lektyna izolowana z *Lens culinaris* (*Lens culinaris* lectin), **mAb** – przeciwciała monoklonalne (monoclonal antibodies), **Man** – mannoza (mannose), **MA SP** – proteaza serynowa związana z MBL (MBL-associated serine protease), **MBL** – lektyna wiążąca mannozę (mannose binding lectin), **MHC** – kompleks zgodności tkankowej (major histocompatibility complex), **OST** – oligosacharydylotransferaza (oligosaccharyltransferase), **PAMP** – wzorec molekularny związany z patogenami (pathogen-associated molecular pattern), **PRR** – receptor rozpoznający wzorce (pattern recognition receptor), **PTM** – modyfikacja potranslacyjna (posttranslational modification), **RA** – reumatoidalne zapalenie stawów (rheumatoid arthritis), **RF** – czynnik reumatoidalny (rheumatoid factor), **RNP** – kompleks rybonukleoproteinowy (RNA-protein complex), **SA** – kwas sjałowy (sialic acid), **SAMP** – wzorec molekularny własnych antygenów (self-associated molecular pattern), **Ser** – seryna (serine), **SF** – płyn stawowy (synovial fluid), **SLE** – toczeń rumieniowaty układowy (systemic lupus erythematosus), **SNEC** – resztki komórkowe powstałe w wyniku nekrozy wtórnej (secondary necrotic cell-derived material), **ST6Gal1** –  $\alpha$ 2,6-sjialotransferaza (beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase 1), **T3** – trójiodotyronina (triiodothyronine), **T4** – tyroksyna (thyroxine), **TCR** – receptor limfocytów T (T-cell receptor), **Tg** – tyreoglobulina (thyroglobulin), **ThAb** – przeciwciała terapeutyczne (therapeutic antibodies), **Thr** – treonina (threonine), **TLR** – receptor toll-podobny (toll like receptor), **TPO** – peroksydaza tarczycowa (thyroid peroxidase), **TSHR** – receptor hormonu tyreotropowego (thyroid stimulating hormone receptor), **UPLC** – ultrasprawa chromatografia cieczowa (ultra performance liquid chromatography), **V** – domena zmienna (variable domain).

## WSTĘP

Przeciwciała, nazywane również immunoglobulinami (Ig), są wytwarzane przez komórki plazmatyczne powstające z limfocytów B [59]. Ig są ważnym elementem odpowiedzi humoralnej łączącym wrodzoną i nabytą odpowiedź immunologiczną [32]. Ich struktura i funkcja zależy w istotny sposób od *N*-glikozylacji, czyli modyfikacji potranslacyjnej (PTM) polegającej na dołączeniu oligosacharydu wiązaniem *N*-glikozydowym do asparaginy białka. Obecność *N*-glikanów oraz ich skład monosacharydowy są istotne dla stabilizacji struktury Ig [14]. Oligosacharydy zmniejszają podatność na działanie proteaz. Są również ważne dla prawidłowego wydzielania immunoglobulin [6, 35]. Budowa *N*-glikanów we fragmencie Fc łańcuchów ciężkich decyduje o aktywności pro- lub przeciwpalnej przeciwciał [69]. Zmieniona glikozylacja IgG jest związana z rozwojem różnych chorób u ludzi [126], w tym szczególnie schorzeń o podłożu autoimmunizacyjnym [56]. W reumatoidalnym zapaleniu stawów, toczniu rumieniowatym układowym i chorobie Leśniowskiego-Crohna nieprawidłowo glikozylowane autoprzeciwciała są czynnikiem sprawczym uruchamiającym patogenne mechanizmy chorobowe [41].

## BUDOWA I FUNKCJA IgG

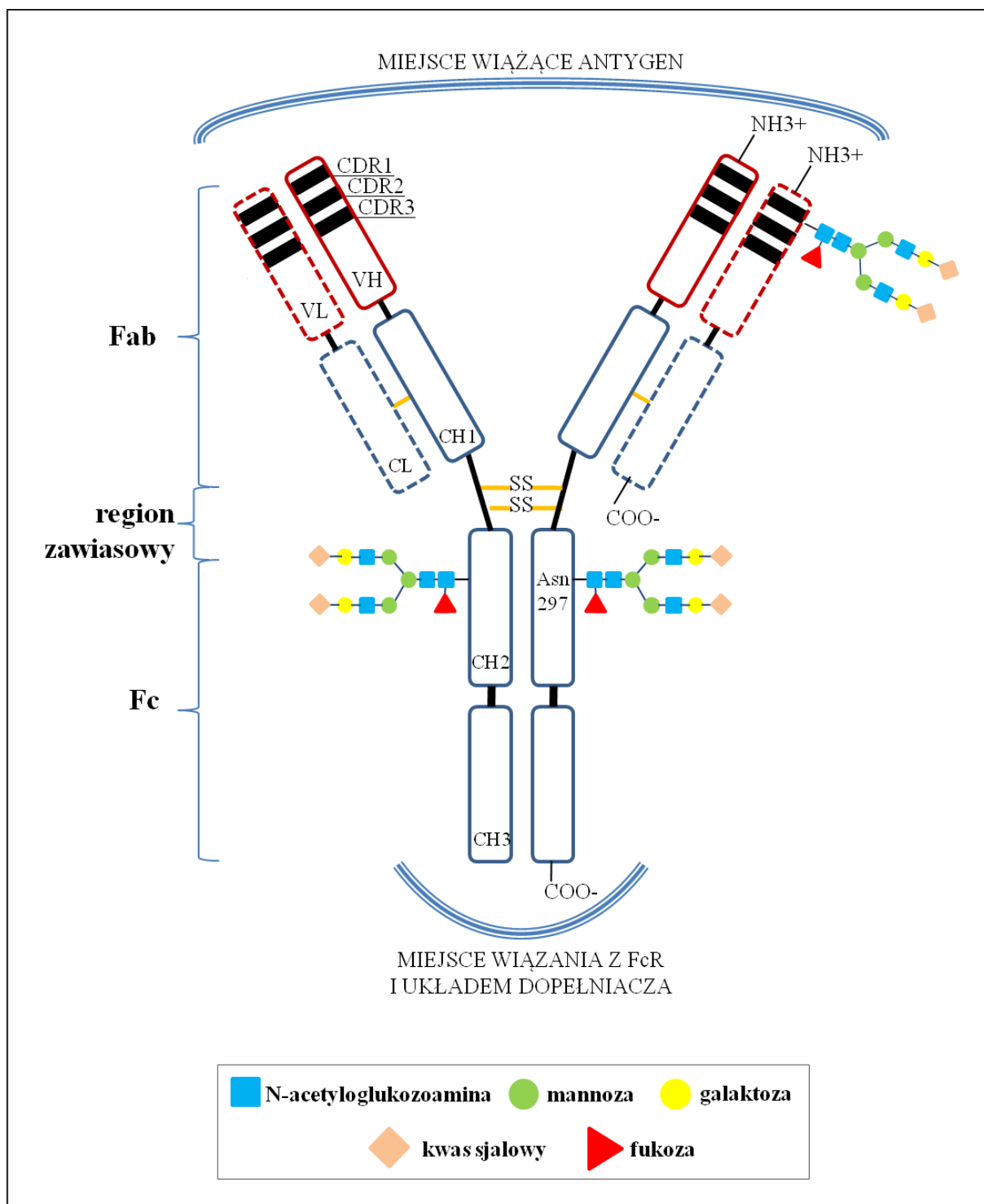
Przeciwciała klasy G (IgG) stanowią do 75% wszystkich immunoglobulin osocza i mają najdłuższy okres półtrwania ze wszystkich pięciu klas Ig [59]. Ludzka IgG jest glikoproteiną zbudowaną z dwóch identycznych łańcuchów ciężkich (H) i dwóch łańcuchów lekkich (L) połączonych mostkami disiarczkowymi. Wyróżnia się cztery podklasy IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) i ponad 30 glikoform łańcucha ciężkiego [57, 86, 93, 123]. Łańcuchy lekkie i częściowo ciężkie tworzą fragment wiążący anty-

gen (Fab), natomiast pozostałe domeny łańcuchów ciężkich budują fragment krystaliczny (Fc). Koniec aminowy każdego z łańcuchów wykazuje dużą zmienność aminokwasową, dlatego nazwany został regionem zmiennym (V) w odróżnieniu od pozostałej części polipeptydów w odcinkach C-końcowych o względnie stałym składzie aminokwasów (C, część stała) [12, 94]. W obrębie fragmentu V znajduje się 3 regiony hiperzienne (CDR1-3) oraz 4 regiony zrębowe (FR) o mniejszej zmienności aminokwasowej niż CDR. Regiony CDR są miejscem wiążącym antygen, więc ich skład aminokwasowy, jak również rozmiar determinuje swoistość antygenową przeciwciała [28, 93]. Łańcuch L zawiera jeden region zmienny (VL) i jeden stały (CL), natomiast w łańcuchu H są obecne 4 domeny: jedna zmienna (VH) oraz 3 stałe (CH1, CH2 i CH3). Na fragment Fab składają się domeny V i C umiejscowione zarówno w obrębie ciężkich, jak i lekkich łańcuchów, natomiast na Fc wyłącznie domeny stałe łańcuchów ciężkich. Domeny CH1 i CH2 oddziela region zawiasowy, w którym znajdują się wiązania dwusiarczkowe łączące łańcuchy ciężkie IgG (ryc. 1) [12, 94].

Fab odpowiada za wiązanie antygeny, a Fc za funkcje efektorowe przeciwciała inicjowane po połączeniu się ze swoimi receptorem (FcR) obecnym na komórkach układu odpornościowego, m.in. monocytach, makrofagach, komórkach dendrytycznych, limfocytach, komórkach NK, bazofilach, eozynofilach, komórkach tucznych. Dzięki temu IgG mogą brać udział w cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC), fagocytozie zależnej od przeciwciał (ADCP) oraz cytotoksyczności zależnej od układu dopełniacza (CDC) [21, 78].

## N-GLIKOZYLACJA

Większość białek błonowych i wydzielniczych, w tym wszystkie klasy przeciwciał, modyfikowana jest potran-



**Ryc. 1.** Schemat budowy przeciwciała klasy IgG. Częsteczka IgG zbudowana jest z dwóch łańcuchów lekkich oznaczonych linią przerywaną (L) i dwóch ciężkich obramowanych linią ciągłą (H) połączonych mostkami disiarczkowymi (-S-S-). Łańcuch lekki składa się z jednego regionu zmiennego (VL) i stałego (CL), łańcuch ciężki z jednego zmiennego (VH) i 3 stałych (CH1, CH2, CH3). Regiony zmienne, przy aminowym końcu cząsteczki (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), zaznaczono na czerwono, a stałe, przy C-końcu (COO<sup>-</sup>), na niebiesko. W obrębie obszaru V wyróżnia się 3 regiony hiperzmiennne (CDR1-3). Przeciwciało zawiera fragment Fab, który jest miejscem wiązania antygenu, fragment Fc odpowiedzialny za związanie z receptorem na komórkach efektorowych oraz pośredni region zawiasowy. Do asparaginy 297 (Asn 297) Fc dołączony jest N-glikan typu złożonego (opracowano na podst. [11, 93])

slacyjnie przez enzymatyczne dołączenie reszt cukrowych w procesie glikozylacji [86]. Tworzenie wiązań glikozydowych między glikanem (oligosacharydem, łańcuchem cukrowym) a białkiem lub między poszczególnymi monosacharydami w strukturze glikanu jest katalizowane przez glikozylotransferazy, a odłączanie monosacharydów od glikanu zachodzi z udziałem glikozydaz o właściwościach hydrolitycznych. W powstawanie oligosacharydów zaangażowanych jest ponad 250 enzymów błonowych siateczki śródplazmatycznej (ER) i aparatu Golgiego (AG), których aktywność jest swoista tkankowo i komórkowo [67, 124]. Białka są modyfikowane ko- i/lub potranslacyjnie w procesie N- i/lub O-glikozylacji. N-glikoproteiny powstają w wyniku tworzenia wiązania N-glikozydowego pomiędzy N-acetylglukozaminą (GlcNAc) glikanu a azotem grupy amidowej asparaginy (Asn) w sekwencji Asn-X-Ser/Thr, gdzie X to dowolny aminokwas z wyjątkiem proliny. Natomiast w procesie O-glikozylacji glikany są dołączane wiązaniem O-glikozydowym do grupy hydroksylowej seryny (Ser) lub Thr (treoniny) łańcucha polipeptydowego [76]. IgG podlega głównie procesowi N-glikozylacji, dlatego niżej zamieszczono krótką charakterystykę tego procesu.

Proces N-glikozylacji rozpoczyna się po stronie cytoplazmatycznej ER od sekwencyjnego dobudowywania kolejnych monosacharydów do ufosforylowanego dolicholu (Dol-P) obecnego w błonie ER. Po uzyskaniu struktury złożonej z Dol-P, dwóch reszt GlcNAc i pięciu reszt mannozy (Man) cała cząsteczka (Man5GlcNAc2-P-Dol) jest przenoszona do światła ER z udziałem flipaz. Kolejne modyfikacje enzymatyczne prowadzą do powstania struktury Glc3Man9GlcNAc2 (tzw. prekursorowego oligosacharydu), która oprócz reszt GlcNAc i Man zawiera też reszty glukozy (Glc). Ten prekursorowy oligosacharyd jest transportowany z Dol-P na Asn-X-Ser/Thr łańcucha peptydowego z udziałem oligosacharylotransferazy (OST). Łańcuch cukrowy glikoproteiny po dalszych modyfikacjach w ER, trafia do AG, gdzie dochodzi ostatecznie do powstania trzech możliwych klas N-glikanów: wielomannozowej, hybrydowej i/lub złożonej (ryc. 2A) [15, 101, 120]. Cechą wspólną wszystkich N-oligosacharydów jest obecność struktury rdzeniowej GlcNAc2Man3, do której są dobudowywane kolejne monocukry tworzące część zewnętrzną. Struktury wielomannozowe w części zewnętrznej zawierają wyłącznie reszty Man w liczbie od pięciu do dziesięciu. Natomiast do struktury rdzeniowej w N-glikanach złożonych są dołączone tzw. anteny zbudowane z reszt GlcNAc, galaktozy (Gal), fukozy (Fuc) i kwasu sjałowego (SA) (ryc. 2B). N-glikany złożone różnią się liczbą anten (2-4), stopniem galaktozylacji (zawartości Gal w antenach), sjałilacji (liczbą reszt SA oraz rodzajem wiązania glikozydowego, którym ten monosacharyd jest dołączony do reszt Gal ( $\alpha$ 2,3 i  $\alpha$ 2,6) lub GalNAc ( $\alpha$ 2,6)) oraz fukozytacji (liczbą reszt Fuc, wiązaniem oraz miejscem dołączenia tego monosacharydu: do struktury rdzeniowej wiązaniem  $\alpha$ 1,6 lub do reszt Gal i GalNAc w antenach wiązaniem  $\alpha$ 1,2 i/lub  $\alpha$ 1,3). Na różnorodność N-glikanów

wpływa również możliwość dołączenia reszty GlcNAc wiązaniem  $\beta$ 1,4 do Man $\beta$ 1-4GlcNAc struktury rdzeniowej i powstania tzw. form z GlcNAc przedzielającą. Typ hybrydowy łączy w sobie cechy struktur wielomannozowych i złożonych [15, 124].

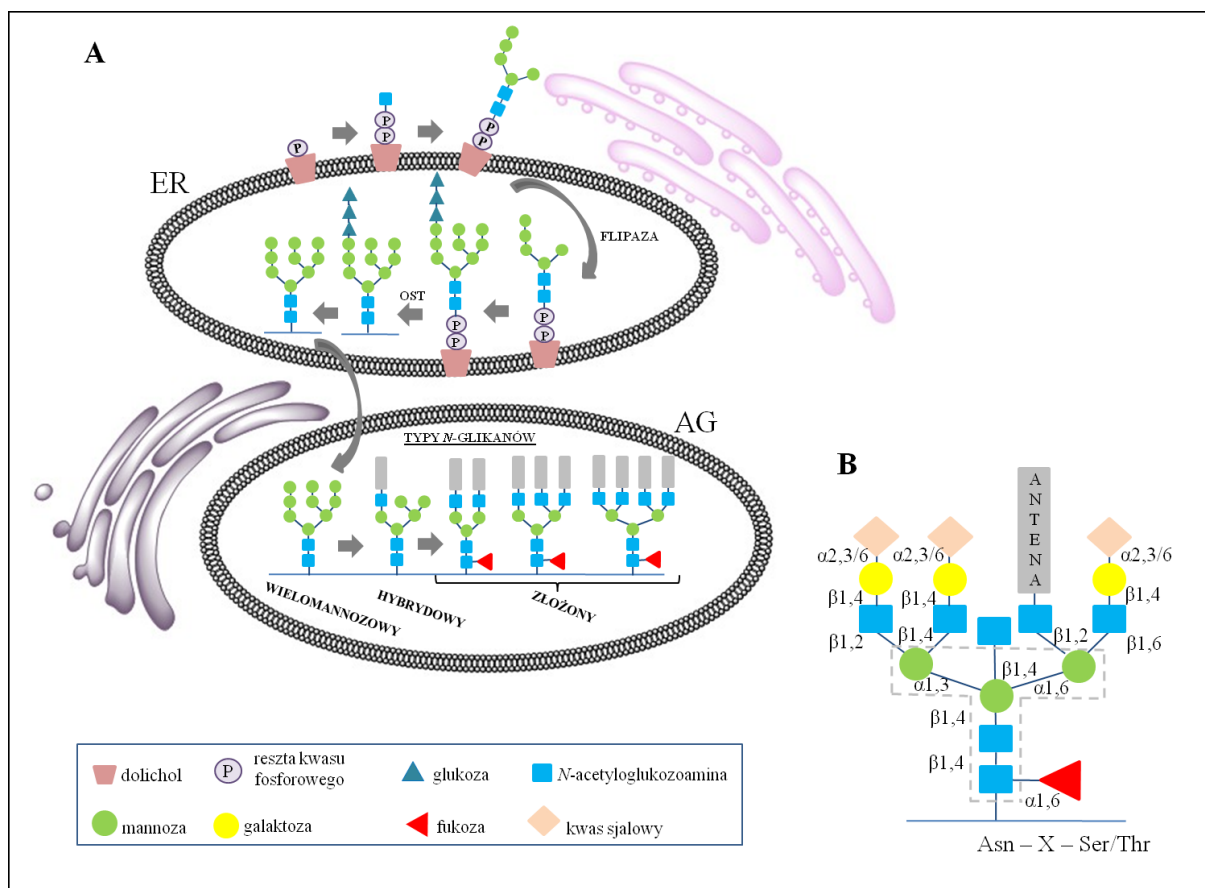
Synteza łańcuchów oligosacharydowych nie odbywa się na odpowiedniej matrycy, tak jak w przypadku białek, które powstają na podstawie informacji zapisanej w DNA. O budowie N-glikanów decyduje wiele czynników wewnątrzkomórkowych, z których najistotniejsza jest ekspresja i aktywność enzymów (glikozylotransferaz i glikozydaz), dostępność donorów cukrowych, liczba i dostępność potencjalnych miejsc glikozylacji oraz synteza prekursorów. To samo białko może być inaczej glikozylowane w zależności od wymienionych czynników wewnątrzkomórkowych oraz czynników zewnątrzkomórkowych (np. obecności we krwi sjałotransferaz wydzielanych przez wątrobę) [48], a także wielu czynników osobniczych (m.in. wieku i płci) [85], dając w efekcie wiele różnych wariantów danej glikoproteiny (tzw. glikoform) [15, 76].

## GLIKOZYLACJA IgG

Wszystkie IgG mają N-glikozylowane domeny CH2 w Fc, w obrębie których są obecne N-glikany typu złożonego przyłączone do obydwu asparagin 297 łańcuchów ciężkich. Chociaż domeny CH2 IgG obydwu łańcuchów ciężkich nie kontaktują się bezpośrednio, N-glikan fragmentu Fc stanowi łącznik między nimi, który osłania hydrofobową wewnętrzną powierzchnię CH2 od polarnego środowiska na zewnątrz cząsteczki. W przypadku 10-30% IgG znajdujących się w surowicy stwierdzono również glikozylację we fragmencie Fab [13, 94, 115]. Rejon zawiasowy niektórych podklas IgG (IgG3, IgG2b) jest dodatkowo O-glikozylowany [81].

Fragmenty Fc i Fab zawierają głównie dwuantenowe N-glikany typu złożonego (ryc. 1) [123]. Glikany IgG są wysoce heterogenne, ze względu na różną liczbę reszt Fuc, Gal, SA oraz GlcNAc przedzielającej dołączonych do heptasacharydu GlcNAc2Man3GlcNAc2 (określanego jako forma G0) dwuantenowej struktury rdzeniowej N-glikanów typu złożonego [74]. W przypadku Fuc na heterogenność glikoform wpływa również lokalizacja tego monosacharydu, który może być dołączony do pierwszej reszty GlcNAc części rdzeniowej (fukoza rdzeniowa) lub do terminalnych reszt Gal anten glikanu [123]. W zależności od zawartości reszt Gal w części zewnętrznej anten glikany IgG są klasyfikowane jako G0, G1, G2 [74]. W surowicy krwi ludzkiej stwierdzono obecność 36 glikoform IgG o odmiennej strukturze N-glikanu dołączonego do Asn297 łańcuchów ciężkich [58]. Oligosacharydy dołączone do Fc i Fab różnią się znacząco budową. N-glikany typu złożonego fragmentu Fc są słabiej sjałowane a mocniej fukozylowane niż struktury związane do fragmentu Fab. Ponadto, w Fab zidentyfikowano obecność glikoform wielomannozowych [11, 57, 109].





**Ryc. 2. A** - biosynteza N-glikanów. Reszty cukrowe dobudowywane są do ufosorylowanego dolicholu po cytoplazmatycznej stronie siateczki śródplazmatycznej (ER). Struktura złożona z dolicholu, dwóch reszt fosforanowych (P-P), dwóch reszt N-acetyloglukozaminy i pięciu reszt mannozy przenoszona jest do światła ER z udziałem flipazy. Po dołączeniu kolejnych czterech reszt mannozy i trzech reszt glukozy oligosacharyd transportowany jest *en block* z dolicholu na Asn-X-Ser/Thr łańcucha polipeptydowego, gdzie X to dowolny aminokwas z wyjątkiem proliny, z udziałem oligosacharydylotransferazy (OST). Po hydrolizie reszt glukozy od prekursorowego oligosacharydu N-glikozylowane białko przechodzi do aparatu Golgiego (AG), gdzie struktura N-glikanu podlega dalszym modyfikacjom prowadzącym ostatecznie do powstania trzech typów N-glikanów: wielomannozowego, hybrydowego i złożonego dwu-, trzy- i/lub czteroantennowego. **B** - schemat czteroantennowego N-glikanu typu złożonego. Linia przerywaną zaznaczono pentasacharydową strukturę rdzeniową obecną w każdym z typów N-glikanów, która może być dodatkowo fukozylowana. W części zewnętrznej (tj. poza strukturą rdzeniową) do struktur typu hybrydowego i złożonego dołączone są anteny zbudowane z reszt N-acetyloglukozaminy, galaktozy, kwasu sjałowego oraz fukozy (na podstawie [16, 76])

Struktura glikanów IgG zależy głównie od ekspresji glikozydaz i glikozylotransferaz oraz dostępności miejsc glikozylacji dla tych enzymów w limfocytach B i komórkach plazmatycznych odpowiedzialnych za wytwarzanie przeciwciał. Dostęp enzymów do domeny Fab jest łatwiejszy niż do miejsc glikozylacji we fragmentach Fc, które znajdują się od strony wewnętrznej łańcuchów ciężkich. Ekspresja enzymów biorących udział w procesie glikozylacji zależy od wielu czynników, m.in. wieku, poziomu hormonów i cytokin, obecności bakteryjnego DNA i metabolitów pochodzących z diety oraz jest odmiennie regulowana w czasie ciąży [115]. Najnowsze badania wykazały, że glikozylacja nie jest procesem wyłącznie wewnątrzkomórkowym, jak sądzono dotychczas. Sjałilacja IgG może być modyfikowana po uwolnieniu przeciwciał do krwi, więc niezależnie od klasycznego wewnątrzkomórkowego procesu zachodzącego w ER i AG limfocytów B i komórek pla-

zmatycznych. Reszty SA są dołączane do IgG w wyniku pozakomórkowej modyfikacji potranslacyjnej zachodzącej w krwiobiegu z udziałem płytek krwi. Enzymem zaangażowanym w ten proces jest wydzielana do krwi przez wątrobę  $\alpha$ 2,6-sjałotransferaza-1 (ST6Gal1), a nukleotydowym donorem SA monofosforan cytydyny (CMP) uwalniany z ziarnistości  $\alpha$  płytek krwi [48].

Modyfikacja struktury glikanu przez glikozylotransferazy zależy również od obecności danych reszt cukrowych w istniejącej strukturze. Fukozylacja rdzeniowa ( $\alpha$ 1,6) oraz anten glikanów wzmacnia oddziaływanie między homologicznymi domenami fragmentu Fc za pośrednictwem łańcuchów cukrowych, co wpływa na konformację glikanów. Zwiększa to stabilność fragmentu Fc ułatwiając dostęp do glikanu enzymom biorącym udział w dalszej obróbce, m.in. sjałotransfe-

razem. Wykazano również większą wydajność przyłączenia reszty GlcNAc przedzielającej do rdzenia, który jest fukozylowany [18]. Natomiast wcześniejsze dołączenie GlcNAc przedzielającej hamuje aktywność  $\alpha$ 1,6-fukozylotransferazy (FUT8), która katalizuje dodanie fukozy rdzeniowej [108].

### ROLA GLIKOZYLACJI FRAGMENTU Fc IgG

N-glikany w obrębie ciężkich łańcuchów fragmentu Fc IgG wpływają na funkcje efektorowe przeciwciał przez zmianę ich struktury trójwymiarowej i wiązanie do FcR [11]. Glikany pełnią funkcję łącznika między dwoma łańcuchami, dzięki czemu stabilizują cząsteczkę IgG i nadają jej konformację sprzyjającą wiązaniu do receptora [12, 75]. Usunięcie glikanów powoduje zwijanie się ciężkich łańcuchów, osłabienie powinowactwa do FcR oraz zahamowanie procesów ADCC i CDC [13, 94].

Glikoformy Fc różnią się powinowactwem do białek układu dopełniacza lub FcR, co może spowodować pobudzenie lub hamowanie odpowiedzi immunologicznej [5, 35]. Niesjalowane przeciwciała we fragmencie Fc efektywniej przyłączają się do receptorów niż glikoformy zawierające SA, natomiast fukozyłacja kontroluje aktywność ADCC [5]. Zmiany w fukozyłacji rdzeniowej N-glikanu Fc wpływają na wiązanie IgG do FcR w zależności od typu receptora. Wykazano 50-krotnie silniejsze wiązanie przeciwciał pozbawionych Fuc struktury rdzeniowej N-glikanów z FcRIIIa w porównaniu do IgG fukozylowanych, co powodowało wzmocnienie ADCC [95]. Dołączenie Fuc zmniejsza powinowactwo IgG do FcRIIIa i tym samym zapobiega inicjacji ADCC [33, 46, 95, 97]. Natomiast sjalilacja fragmentu Fc zmienia prozapalny charakter przeciwciała na przeciwwapalny [49]. Wiązanie sjalowanego Fc do receptora zapoczątkowuje przeciwwapalną kaskadę, w którą jest zaangażowana lektyna określana jako swoista dla komórek dendrytycznych nieintegryna wychwytyjąca cząsteczkę adhezji międzykomórkowej 3 (DC-SIGN). To wiązanie zwiększa również ekspresję inhibitorowego receptora FcRIIb na powierzchni komórek odpornościowych, czego skutkiem jest wyciszenie zapalenia wywołanego przez autoprzeciwciała [2, 4].

We fragmencie Fc glikozylowane są nie tylko przeciwciała obecne w surowicy, ale również immunoglobuliny błonowe będące receptorami limfocytów B (BCR). Ważną rolę w funkcjonowaniu BCR, a tym samym komórek, na powierzchni których są umiejscowione, odgrywa fukozyłacja rdzeniowa N-glikanów. U myszy nokaut genu *Fut8*, którego produktem jest enzym odpowiadający za przyłączanie reszt Fuc do struktury rdzeniowej N-glikanu, uniemożliwia oligomeryzację BCR (IgG2a) wywołaną przyłączeniem antygeny [62]. Oligomeryzacja receptora zapewnia BCR przyjęcie konformacji sprzyjającej powinowactwu receptora do traw lipidowych, co inicjuje kaskadę sygnałową zapoczątkowaną aktywacją BCR [80]. Gdy glikany BCR nie są fukozylowane, maleje liczba limfocytów B i tym samym spada sekrecja IgG. Ponadto, u myszy z nokautem genu *Fut8* wykazano obniżoną eks-

presję genów zaangażowanych m.in. w sygnalizację BCR oraz nadekspresję genów biorących udział w różnicowaniu limfocytów [62].

### ROLA GLIKOZYLACJI FRAGMENTU Fab IgG

Fragment Fab glikozylowany jest w jednej na cztery lub pięć cząsteczek IgG (15-25% Fab) w surowicy, co wynika z lokalizacji miejsc glikozylacji w regionach hiperzmienionych [11, 123]. Chociaż nie każde przeciwciało zawiera glikany we fragmencie Fab, wykazano, że ta modyfikacja potranslacyjna jest istotna w wiązaniu antygeny przez IgG [12, 26, 109]. Obecność reszt cukrowych w Fab zwykle zwiększa powinowactwo przeciwciała do antygeny. Jest to jednak zależne od miejsca hiperzmienionego, do którego są przyłączone glikany. Łańcuch cukrowy przyłączony do Asn58 regionu zmiennego łańcucha ciężkiego IgG powoduje 10-krotny wzrost powinowactwa, glikan obecny przy Asn60 3-krotnie zwiększa powinowactwo, natomiast obecność oligosacharydu przy Asn54 uniemożliwia wiązanie IgG do antygeny [26]. N-glikozylacja we fragmencie Fab wydłuża także okres półtrwania IgG we krwi [12, 26, 109].

### GLIKANY W AUTOTOLERANCJI I AUTOAGRESJI

Glikoproteiny układu odpornościowego oraz cząsteczki je wiążące są ważnym elementem warunkującym stan autotolerancji [10, 25, 41, 92, 109], a zmiany glikozylacji tych białek mogą sprzyjać autoagresji [70]. Na każdym etapie w odpowiedzi immunologiczną jest zaangażowanych bardzo wiele glikozylowanych białek sekrecyjnych oraz błonowych. Oprócz przeciwciał, glikoproteinami wydzielniczymi są cytokiny oraz białka dopełniacza. Na powierzchni leukocytów glikozylowane są receptory Toll-podobne (TLR), cząsteczki głównego układu zgodności tkankowej (MHC) klasy I i II, receptory chemokin, cytokin, receptory i koreceptory limfocytów T i B [83, 84, 124]. Najważniejsze dla funkcji efektorowych glikanów są białka wiążące glikany (GBP), czyli głównie endogenne lektyny, które rozpoznają i wiążą określone struktury cukrowe [86, 91].

W aktywności układu immunologicznego istotna jest również glikozylacja antygenów rozpoznawanych przez komórki odpornościowe [113]. Na przełomie XX i XXI w. wyjaśniono, w jaki sposób układ odpornościowy rozpoznaje obce białka i generuje odpowiedź immunologiczną [70]. Antygeny patogenów są identyfikowane jako obce dla gospodarza dzięki zachowanym w toku ewolucji wzorom molekularnym wytwarzanym przez mikroorganizmy, określanym jako wzorce molekularne związane z patogenami (PAMP) [72]. PAMP oraz wzorce molekularne związane z uszkodzeniem (DAMP) uwalniane z komórek uszkodzonych tkanek, są w większości glikokoniugatami rozpoznawanymi przez receptory obecne na komórkach układu odpornościowego, głównie odpowiedzi wrodzonej, zwane receptorami rozpoznającymi wzorce (PRR) [72, 113]. Do PRR należą endogenne lektyny, w tym lektyna wiążąca mannozę (MBL), która rozpoznaje i wiąże

cukrowe wzorce obecne na powierzchni drobnoustrojów oraz uszkodzonych komórek gospodarza, co aktywuje układ dopełniacza na drodze lektynowej [7]. Związanie liganda cukrowego przez MBL powoduje zmianę konformacji lektyny, dzięki czemu kompleks jest wrażliwy na działanie proteaz serynowych związanych z MBL (MASP), które aktywują układ dopełniacza przez rozkład składników C3 i C4. Dochodzi do napływu komórek immunokompetentnych do miejsca infekcji oraz degranulacji komórek tucznych, a to uruchamia kaskadę zdarzeń prowadzących do wyeliminowania patogenów [54, 124].

Oprócz PAMP i DAMP w układzie odpornościowym funkcjonują też wzorce molekularne autoantygenów (SAMP) rozpoznawane przez receptory o charakterze hamującym, co jest istotne do utrzymania stanu tolerancji układu immunologicznego na własne antygeny [113]. Do receptorów SAMP należą lektyny wiążące SA różnych populacji leukocytów, a także lektyny typu C obecne na komórkach dendrytycznych [22, 34]. Zadaniem komórek układu odpornościowego jest prawidłowe zaklasyfikowanie autoantygenów jako białek własnych i uruchomienie mechanizmów tolerancji. Zakłócenia w tym procesie na poziomie glikanów zarówno w układzie odpornościowym, jak również glikozylacji antygenów mogą się przyczyniać do powstania odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko własnym komórkom i rozwoju chorób o podłożu autoimmunizacyjnym [70, 111].

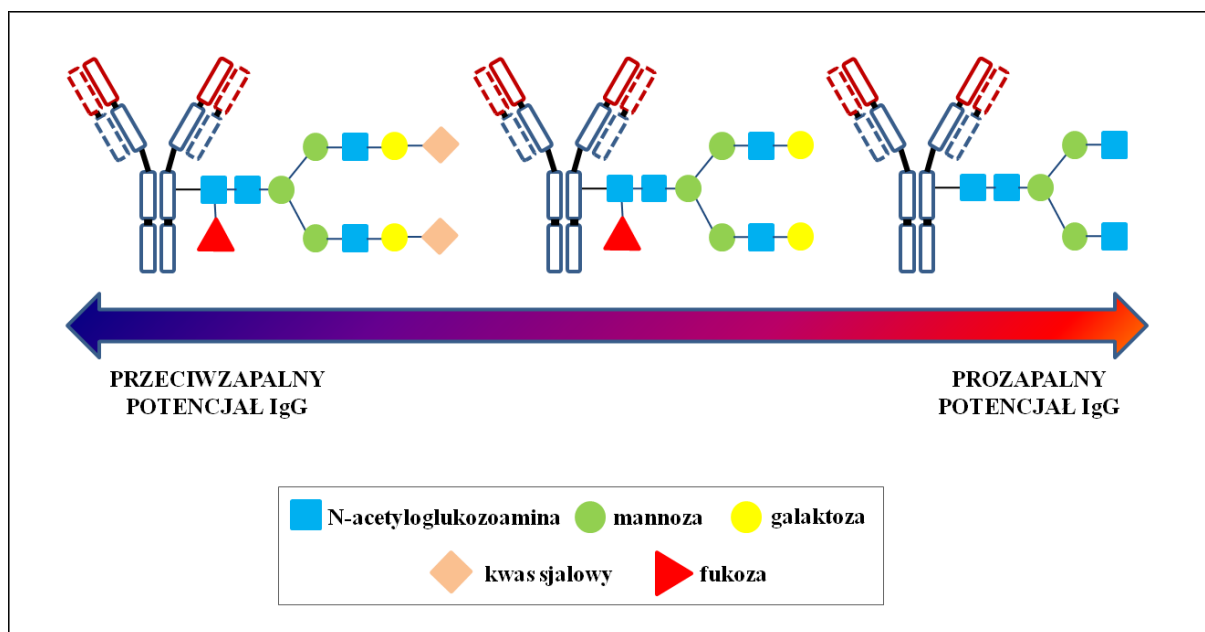
W przebiegu chorób autoimmunizacyjnych dochodzi do zmian glikozylacji, które sprzyjają autoagresji. W reumatoidalnym zapaleniu stawów (RA) i toczeniu rumieniowatym układowym (SLE) zmiany glikozylacji

dotyczą zarówno IgG, jak również efektorowych limfocytów T. Na powierzchni limfocytów T ekspozowana jest terminalna N-acetylogalaktozamina (GalNAc) i struktury Gal $\beta$ 1,4GlcNAc [17], które są wiązane przez MBL i galektyny, a to hamuje zwrotnie sygnalizację receptora limfocytów T (TCR) i zmienia aktywność fosfatazy tyrozynowej CD45 [31, 112]. Zmniejszona zawartość N-glikanów z rozgałęzieniami  $\beta$ 1,6GlcNAc na powierzchni TCR obniża próg aktywacji tego receptora i prowadzi do rozwoju nadwrażliwości typu późnego zwiększając ryzyko rozwoju chorób autoimmunizacyjnych w mysich modelach [31, 42].

Zaburzeniom procesów autotolerancji towarzyszą zmiany glikozylacji IgG (ryc. 3). Przeciwciało może wykazywać aktywność prozapalną lub przeciwzapalną w zależności od składu cukrowego glikanów dołączonych do Asn297 [69]. Aktywność immunosupresyjna IgG zwiększa zdolność fagocytarnych makrofagów i komórek dendrytycznych oraz osłabia prezentację antygeny przez komórki prezentujące antygen (APC). Modyfikacja budowy N-glikanów, głównie fukozytacji, sialilacji oraz galaktozylacji glikanów IgG wpływa na powinowactwo przeciwciał do receptora fragmentu Fc (FcR), aktywację białek dopełniacza oraz procesy ADCC i CDC [5, 8, 35].

### GLIKOZYLACJA IgG W REUMATOIDALNYM ZAPALENIU STAWÓW

Chorobą autoimmunizacyjną, w której najlepiej poznano glikozylację IgG, jest reumatoidalne zapalenie stawów. RA jest chronicznym, postępującym zapaleniem tkanki łącznej. W początkowych etapach choroby procesy zapalne obejmują błonę maziową stawów, powodując uszkodzenia chrząstki, kości oraz ścięgien. Jest



**Ryc. 3.** Budowa N-glikanów przyłączonych do asparaginy 297 (Asn297) łańcucha ciężkiego Fc IgG wpływa na funkcje efektorowe przeciwciał. N-glikany typu złożonego IgG sialowane na obydwu ramionach oraz fukozylowane w części rdzennej wykazują największy potencjał przeciwzapalny w przeciwieństwie do struktur pozbawionych fukozy, kwasu sialowego oraz galaktozy, które mają właściwości prozapalne (na podstawie [94])



to schorzenie układowe obejmujące także nerki, serce, płuca oraz układ nerwowy [35, 116]. Etiopatogeneza choroby jest wieloczynnikowa; procesy autoimmunizacyjne obejmują m.in. nieprawidłową syntezę cytokin, zaburzenia w migracji komórek immunokompetentnych oraz zmiany w procesie apoptozy [103, 106]. W przebiegu RA w surowicy chorych są obecne różne typy autoprzeciwciał, wśród których najlepiej poznany jest czynnik reumatoidalny (RF), czyli przeciwciała klasy M, rzadziej G lub A. Ig należące do grupy RF są skierowane przeciwko domenom CH2 i CH3 fragmentów Fc IgG [45]. RF zostały jako pierwsze opisane w RA, ale nie są swoiste dla tej choroby, ponieważ są obecne również w innych chorobach przewlekłych i zakaźnych, a nawet u osób zdrowych. Patogenne działania RF wynikają z tworzenia kompleksów immunologicznych, aktywacji dopełniacza oraz stymulacji czynników zapalnych [51].

Nieprawidłowości w procesie glikozylacji przeciwciał przyczyniają się do rozwoju RA i są ściśle związane z patogenezą choroby [16, 69]. Do najistotniejszych zmian w profilu cukrowym przeciwciał należy wzrost agalaktozylowanych glikoform Fc IgG w surowicy chorych z RA [36, 79]. IgG, przeciwko którym skierowany jest RF, wykazują prozapalny profil glikozylacji Fc spowodowany spadkiem galaktozylacji i sjalilacji. Do zmian glikozylacji dochodzi przed pojawianiem się klinicznych objawów choroby [69]. Spadek galaktozylacji IgG powoduje odsłonięcie reszt GlcNAc, a to jest przyczyną upośledzenia wiązania się przeciwciał z białkami dopełniacza. W konsekwencji aktywacja układu dopełniacza drogą klasyczną jest utrudniona. Reszty GlcNAc agalaktozylowanych glikanów IgG są wiązane przez MBL, powodując niekontrolowaną aktywację układu dopełniacza drogą lektynową i inicjując proces zapalny [41]. Oddziaływanie IgG z MBL stwierdzono już we wczesnym stadium choroby. Agalaktozylacja IgG upośledza również ADCC oraz wzmacnia wytwarzanie RF, przez zwiększone powinowactwo autoprzeciwciał do pozbawionego Gal fragmentu Fc przeciwciała [35]. Mniejsza zawartość SA zwiększa powinowactwo IgG do receptora Fc, promując prozapalne właściwości przeciwciał [37]. W remisji choroby po terapii jednolekowej metotreksatem oraz dwulekowej połączonej z preparatem Remicade o działaniu przeciwzapalnym (przeciwciała przeciwko TNF- $\alpha$ ) obserwowano wzrost galaktozylacji IgG [79]. Zarówno galaktozylacja, jak również sjalilacja IgG w remisji choroby wracają do poziomu porównywalnego z glikozylacją u osób zdrowych [37].

W patogenezie RA ważną rolę odgrywają również cytrulinowe białka powstające w wyniku deiminacji (określanej również jako cytrulinacja) argininy do cytruliny katalizowanej przez zależną od jonów wapnia deiminazę peptydyloargininową. Ta modyfikacja potranslacyjna wywołuje zmiany argininy zawierającej dodatnio naładowaną grupę guanidynową pozbawioną ładunku elektrycznego cytrulinę. Utrata ładunku powoduje rozwinięcie białek i zmianę ich właściwości antygenowych, co sprawia, że stają się celem humoralnej odpowiedzi immunologicznej [121]. Przeciwciała IgG przeciwko

cytrulinowym białkom i peptydom (ACPA) są najbardziej swoistym markerem serologicznym RA, ściśle skorelowanym z intensywnością zapalenia stawów. Są również użyteczne do oceny prawdopodobieństwa rozwoju RA, ponieważ ich obecność stwierdza się we krwi na długo przed pojawieniem się pierwszych objawów choroby [39, 51, 102]. Chociaż nie u wszystkich chorych ACPA są wykrywane, stąd podział na ACPA-negatywne i ACPA-pozytywne RA [53]. Do cytrulinowych białek obecnych w błonie maziowej torebek stawowych chorych z RA należy m.in. wimentyna, filagryna i fibrynogen [27]. Cytrulinowe peptydy wiążą się z większym powinowactwem do MHC i mocniej aktywują limfocyty CD4+ [96].

Zdecydowana większość autoprzeciwciał ACPA jest N-glikozylowana we fragmencie Fab. ACPA-IgG izolowane z płynu stawowego, w którym toczy się stan zapalny w RA, mają 100% domen zmiennych w rejonie Fab glikozylowanych [51]. N-glikany Fab zwiększają masę cząsteczkową IgG o 10-20 kDa. Intensywna glikozylacja Fab w ACPA jest skutkiem hipermutacji somatycznych zachodzących w limfocytach B, które dostarczają dodatkowych miejsc N-glikozylacji w rejonach hiperzmiennych IgG. Wiązanie lektyn do ACPA mocno glikozylowanych we fragmencie Fab, obecnych na powierzchni limfocytów B (receptory BCR), generuje sygnały wydłużające czas życia tych komórek [89]. Niedawne badania wykazały, że ACPA-IgG zawierają w domenie Fab mocno sjalowane glikany w ponad 90% tych przeciwciał, co jest pięciokrotnie większą wartością niż w przypadku IgG przeciwko niecytrulinowym białkom pochodzącym od tych samych dawców z RA. Intensywniejszą sjalilację ACPA-IgG stwierdzono w płynie stawowym (SF) niż we krwi obwodowej pacjentów. Hipersjalilacja glikanów Fab w cząsteczkach ACPA może sprzyjać wiązaniu lektyn swoistych dla SA i w związku z tym nabyciu nowych immunologicznych właściwości [43]. Zmiany glikozylacji ACPA wykazano również we fragmencie Fc tych przeciwciał. Glikozylacja Fc ACPA ma charakter prozapalny, co wynika z obniżonego poziomu galaktozylacji i sjalilacji IgG1-ACPA w płynie stawowym w porównaniu do całkowitej puli IgG1 w SF. IgG1-ACPA wykazywały też mniejszą zawartość SA niż IgG1 w surowicy [16, 90].

W przebiegu ciąży zachodzi spontaniczna remisja RA, natomiast po porodzie ponownie zaostrzają się objawy i rozwój choroby wraca do stanu sprzed ciąży [110]. Remisji choroby w ciąży towarzyszy wzrost galaktozylacji i sjalilacji Fc IgG1 i IgG2, co jest prawdopodobnie związane ze zmianami hormonalnymi [11, 110]. Przypuszcza się, że zmiany glikozylacji IgG w ciąży mogą być jednym z mechanizmów osłabiających reakcję układu immunologicznego matki przeciwko białkom i komórkom płodu, który można porównać do aloprzeszczepu [11].

## GLIKOZYLACJA IgG W TOCZNIU RUMIENIOWATYM

Toczeń rumieniowaty układowy (SLE) należy do autoimmunizacyjnych chorób wielonarządowych obejmujących skórę, stawy, nerki i układ nerwowy [29]. Zaburzenia

procesów odpornościowych w SLE są związane z wieloma czynnikami m.in. hormonalnymi (żeńskie hormony płciowe), środowiskowymi i genetycznymi [55]. Podobnie jak w innych chorobach autoimmunizacyjnych, przyczyny SLE nie są szczegółowo poznane, przyjmuje się jednak, że autoantygeny związane z patogenezą SLE powstają podczas procesu śmierci komórkowej; apoptozy, nekrozy czy NET-ozy. Umierające komórki i ich fragmenty są niewydajnie usuwane przez fagocyty i następnie rozpoznawane przez autoreaktywne przeciwciała. W ten sposób aktywowana jest odpowiedź zapalna obejmująca wiele tkanek organizmu [82]. Charakterystyczne dla SLE autoprzeciwciała rozpoznają głównie epitopy jądrowe obecne w dsDNA i białkach jądrowych tworzących kompleksy z kwasami nukleinowymi [10]. Należą do nich m.in. przeciwciała przeciwjądrowe (ANA), IgG anty-dsDNA, anty-nukleosom, anty-Smith, anty-RNP. Autoprzeciwciała te obejmują w większości klasę IgG, lecz u chorych stwierdzono też obecność klas IgM i IgA [30].

Pierwsze badania dotyczące glikozylacji IgG w SLE wykazały obniżony poziom galaktozylowanych postaci IgG we krwi pacjentów z tą chorobą w porównaniu do zdrowych dawców. W tych samych badaniach podobne wyniki uzyskano także dla opisanych powyżej RA i choroby Leśniowskiego-Crohna [105], co wskazuje, że obniżona galaktozylacja IgG może być cechą charakterystyczną różnych chorób autoimmunizacyjnych. Badania ostatnich lat obejmujące grupę ponad 250 pacjentów z SLE, w których analizowano glikozylację całej puli przeciwciał IgG wyizolowanych z surowicy z użyciem ultrasprawniej chromatografii cieczowej (UPLC), potwierdziły poprzednio opisane doniesienia. Analizy wykazały istotne różnice w profilu glikozylacji IgG między pacjentami z toczniem a zdrowymi dawcami. Zmiany glikozylacji IgG u pacjentów z SLE obejmujące obniżoną galaktozylację, sjalilację i fukozylację IgG oraz zwiększenie ilości N-glikanów z N-acetyloglukozaminą przedzielającą towarzyszą indukcji procesów zapalnych [117].

Obniżona sjalilacja w SLE jest charakterystyczna także dla autoprzeciwciał IgG rozpoznających histony oraz materiał nekrotyczny komórek. We frakcji niesjalowanych przeciwciał IgG aktywność wiązania się do białek histonowych jest większa w porównaniu z całą pulą IgG pacjenta z SLE i zdrowego dawcy. Niesjalowane IgG rozpoznające resztki komórkowe powstałe w wyniku nekrozy wtórnej (SNEC) stymulują usuwanie SNEC przez neutrofile w przeciwieństwie do sjalowanych anti-SNEC, które redukują fagocytozę materiału nekrotycznego [66].

W odróżnieniu od wyżej opisanych analiz glikozylacji wyizolowanych IgG w badaniach Sjöwall i wsp. [100] analizowano glikany IgG tworzących kompleksy z białkami surowicy. Takie immunokompleksy krążą we krwi lub są zdeponowane w tkankach pacjentów z toczniem. Stosując test ELISA oceniono wiązanie lektyny izolowanej z *Aleuria aurantia* (AAL) oraz lektyny izolowanej z *Lens culinaris* (LCL) do kompleksów IgG-białko pochodzących z surowicy pacjentów z SLE i zdrowych dawców. Lek-

tyny AAL i LCL rozpoznają i wiążą się odpowiednio do Fuc i fukozy związanej ze strukturą rdzeniową oligosacharydu. Wykazano, że w porównaniu z grupą kontrolną kompleksy IgG-białko pacjentów z toczniem charakteryzują się intensywniejszym wiązaniem lektyn AAL i LCL, co ma związek ze zwiększoną ekspozycją Fuc. Charakterystyczne dla przebiegu tocznia są następujące po sobie stany zwiększonej aktywności objawów i remisji. Mocniejsze wiązanie AAL stwierdzono w czasie wzmożonej aktywności choroby. Autorzy sugerują, że zwiększone wiązanie kompleksów IgG-białko do lektyn u pacjentów z SLE może sprzyjać większemu powinowactwu tych kompleksów do receptorów lektynowych obecnych na powierzchni komórek układu odpornościowego, które są odpowiedzialne za indukcję procesu fagocytozy [100].

Glikozylacja IgG ma istotny wpływ na funkcje kompleksów IgG z białkami lub RNA u pacjentów z SLE. Wyizolowane z surowicy chorych z SLE immunokompleksy IgG-białko oraz kompleksy IgG-RNA poddano *in vitro* działaniu endoglikozydazy S (Endo S), enzymu który katalizuje hydrolizę wiązania glikozydowego  $\beta$ 1,4 łączącego dwie reszty GlcNAc struktury rdzeniowej N-glikanów typu złożonego z ciężkiego łańcucha IgG. Zastosowanie Endo S znosiło prozapalne właściwości immunokompleksów przez zahamowanie wytwarzania INF- $\alpha$  przez komórki jednojądrzaste, osłabienie chemotaksji, obniżenie aktywacji składników dopełniacza i zahamowanie fagocytozy nekrotycznych fragmentów komórki przez fagocyty. Hamowanie przez Endo S procesów zapalnych może znaleźć zastosowanie w terapii tej choroby oraz wskazuje na ważną rolę glikanów IgG w indukcji procesów zapalnych [64].

Opisany wyżej czynnik reumatoidalny, charakterystyczny dla RA, jest również obecny w surowicy chorych z SLE. Wykazano, że IgG-RF są skierowane nie tylko przeciwko zmienionej glikozylacji Fc IgG, ale również glikanom o odmiennej budowie w rejonie Fab. Wiązanie RF do IgG w SLE zależy od glikozylacji epitopu. Działanie endo- i egzoglikozydaz na fragmenty Fc i Fab IgG zmienia wydajność rozpoznawania epitopów przez czynnik RF. Całkowite usunięcie N-glikanów zmniejszało wiązanie się czynnika RF o 60-70%. Częściowe usunięcie SA oraz Gal zwiększało wydajność wiązania się RF do Fab, nie zaobserwowano jednak takich zmian w przypadku wiązania do fragmentu Fc. Badania te wskazują, że rozpoznawanie fragmentów Fc i Fab przez czynnik RF może być modulowane przez zmianę struktury glikanów dołączonych do rozpoznawanego przez RF fragmentu [24].

## GLIKOZYLACJA IgG W CHOROBY LEŚNIEWSKIEGO-CROHNA

Choroba Leśniowskiego-Crohna (CD) należy do grupy chorób określanych jako nieswoiste zapalenie jelit (IBD), charakteryzujących się przewlekłym stanem zapalnym przewodu pokarmowego. Etiopatogeneza choroby nie jest jeszcze w pełni poznana. Przyczyną są zarówno predyspozycje genetyczne, jak również czynniki środowiskowe, które powodują zmianę odpowiedzi autoimmunologicznej [77, 99]. U pacjentów z CD dochodzi do zaniku błony

śluzowej jelit, co prowadzi do bezpośredniego kontaktu mikrobioty z nabłonkiem, a w tym miejscu rozwija się ostry stan zapalny [104]. Charakterystyczne dla choroby Leśniowskiego-Crohna jest występowanie przeciwciał przeciwko antygenom białkowym *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), *Pseudomonas fluorescens* i *Escherichia coli* oraz cytoplazmie neutrofilów (ANCA). Przeciwciała te są powszechnie wykorzystywane w diagnostyce CD [77].

Glikomarkerem choroby Leśniowskiego-Crohna, podobnie jak w innych chorobach o podłożu autoimmunizacyjnym (SLE, RA), są agalaktozylowane przeciwciała. W przebiegu CD dochodzi do utraty terminalnych reszt cukrowych oligosacharydów przeciwciał i wzrostu zawartości glikoform pozbawionych Gal na jednym lub obu ramionach N-glikanów dołączonych do Fc IgG [77, 98, 99, 107]. Do celów diagnostycznych wykorzystuje się współczynnik G0F/G2F, który określa poziom agalaktozylowanej frakcji fukozylowanych IgG. Wykazano, że współczynnik ten jest lepszym markerem CD niż powszechnie stosowane ASCA, ze względu na większe różnice wartości G0F/G2F uzyskane u chorych z CD w stosunku do osób zdrowych. W przeciwieństwie do RA, w chorobie Leśniowskiego-Crohna stwierdza się stosunkowo niewielkie ilości czynnika RF, co wskazuje na odmienny mechanizm reakcji zapalnej inicjowanej zmienioną glikozylacją IgG [98]. W CD agalaktozylowane przeciwciała są wytwarzane lokalnie w obrębie śluzówki jelita, gdzie oddziałują z komórkami odpowiedzi wrodzonej, obecnymi w tym rejonie, wzmagając ich fagocytarne funkcje efektorowe, co jest mechanizmem kompensacyjnym dla obniżonej aktywności tych komórek w CD. Odmienne niż w RA, proces ten w chorobie Leśniowskiego-Crohna odbywa się bez udziału MBL [77].

W badaniach z udziałem ponad 280 dawców z chorobą Leśniowskiego-Crohna, oprócz wzrostu agalaktozylacji, wykazano również obniżenie poziomu sjałilacji IgG w CD. Potwierdzono, że utrata Gal i SA nadaje IgG prozapalne właściwości, przez zwiększenie powinowactwa do FcR [107]. Oddziaływanie IgG  $\alpha$ 2,6-sjałowanych w rejonie Fc z cząsteczkami DC-SIGN na komórkach dendrytycznych jest niezbędne do przeciwzapalnej aktywności przeciwciał [9]. Dlatego desjałowane IgG są słabiej wiązane przez cząsteczki DC-SIGN obecne na komórkach fagocytarnych, co obniża ekspresję receptora Fc $\gamma$ RIIb o właściwościach hamujących ich funkcje efektorowe. U chorych z CD stwierdzono również wzrost zawartości reszt GlcNAc przedzielającej wiązanej  $\beta$ 1,4 do struktury rdzeniowej N-glikanów IgG. Wpływ tego monosacharydu na funkcje przeciwciał w CD nie jest jeszcze poznany [107], ale wcześniejsze badania wskazują, że IgG1 zawierające tak wiązaną resztę GlcNAc indukują mocniej ADCC [108]. IgG pozbawione SA i Gal inicjują reakcje zapalne w CD za pośrednictwem różnych mechanizmów.

#### GLIKOZYLACJI IgG W CHOROBIE HASHIMOTO

Przewlekłe limfocytowe zapalenie tarczycy zwane chorobą Hashimoto (HT) jest schorzeniem autoimmuniza-

cyjnym prowadzącym do destrukcji gruczołu tarczowego. Wśród przyczyn HT wymienia się czynniki genetyczne i środowiskowe, które prowadzą do przełamania mechanizmów autotolerancji na antygeny tarczycy. Prezentowane są przez komórki APC, głównie komórki dendrytyczne i makrofagi napływające do tarczycy oraz tyreocyty, które również mogą wykazywać typową dla APC ekspresję cząsteczek MHC klasy II [23]. Dochodzi do pobudzenia nieuczulonych limfocytów CD4+, które aktywują limfocyty cytotoksyczne CD8+ i limfocyty B. Limfocyty B przekształcają się w komórki plazmatyczne wytwarzające przeciwciała przeciwko tarczycy. Są to głównie przeciwciała przeciwko peroksydazie tarczycowej (TPO) i tyreoglobulinie (Tg), ale wykrywa się też przeciwciała przeciwko receptorowi hormonu stymulującego tarczycę (TSHR), tyroksynie, trójiodotyroninie, symporterowi sodowo-jodowemu, megalinie i pendrynie [52, 65].

Za najlepszy wskaźnik procesów autoimmunizacyjnych toczących się w obrębie tarczycy uznaje się przeciwciała anty-TPO, obecne w surowicy około 80-95% chorych z HT [20, 71]. Biorą one udział w ADCC i CDC; efektywność ADCC zależy od izotypu przeciwciał, ich glikozylacji, rodzaju komórek efektorowych. W procesie tym bierze udział podklasa IgG1 anty-TPO, która wiąże się z receptorami Fc $\gamma$ R, zwłaszcza typu I, znajdującymi się na neutrofilach i monocytach. Natomiast wysoki poziom anty-TPO podklasy IgG2 jest związany z większym ryzykiem rozwinienia jawnej niedoczynności tarczycy [73, 88].

Przeciwciała anty-Tg są wykrywane u części chorych z HT, jednak ich rola w diagnostyce tego schorzenia jest mniejsza. Mogą się pojawiać również w surowicy osób zdrowych (10-20% zdrowych kobiet) i zwykle są uznawane za wskaźnik zwiększonego ryzyka zachorowania [52, 65]. Tg nie jest białkiem błonowym, dlatego jej udział w ADCC jest wątpliwy. Przeciwciała anty-Tg nie wiążą też dopełniacza [65]. Anty-Tg osób chorych są zdolne do hydrolizy Tg [60], jednak ich rola w patogenezie HT jest niejasna. Oczyszczanie krwi z Tg przez przeciwciała o właściwościach katalitycznych wydaje się korzystne dla pacjenta, jednak obecność limfocytów B syntetyzujących anty-Tg w obrębie gruczołu tarczowego może prowadzić do niszczenia Tg w koloidzie, a w konsekwencji obniżenia stężenia trójiodotyroniny (T3) i tyroksyny (T4) [119]. Przeciwciała anty-Tg rozpoznają różne epitopy tyreoglobuliny w zależności od etapu rozwoju choroby, dlatego wskaźnik ten może być pomocny w monitorowaniu choroby [63].

Glikozylacja IgG w chorobach autoimmunizacyjnych tarczycy, do których należy HT oraz choroba Gravesa-Basedowa (GD), była badana dotychczas w ograniczonym zakresie. Stosując metodę lektynową dla IgG anty-Tg oczyszczonych z surowic przez wiązanie do immobilizowanej Tg, wykazano słabszą fukozylację IgG-Tg w HT w porównaniu do anty-Tg izolowanych z krwi dawców z GD oraz z nowotworami tarczycy [125]. Natomiast poziom  $\alpha$ 1,6-fukozylacji i sjałilacji anty-Tg jest wyższy w surowicy HT w porównaniu do grupy kontrolnej, którą stanowili zdrowi



dawcy. Ponadto wykazano, że stopień fukozytacji i sjałilacji tych IgG jest proporcjonalny do miana przeciwciał. Pacjenci z wysokim poziomem anty-Tg mieli więcej Fuc i SA niż chorzy z umiarkowanie podwyższonym poziomem tych IgG [122]. Badania naszego zespołu przeprowadzone metodą UPLC u ponad stu dawców z chorobą Hashimoto oraz porównywalnej liczbie osób zdrowych, stanowiących grupę kontrolną, wskazują na spadek fukozytacji IgG w przebiegu HT [68].

## GLIKOZYLACJA IgG A PRZECIWCIAŁA TERAPEUTYCZNE

W zwalczaniu chorób zapalnych oraz chorób z autoagresji, takich jak trombocytopenia czy choroba Kawasaki, stosuje się dożylnie preparaty immunoglobulin (IVIg) [92], czyli poliklonalne IgG oczyszczone z surowicy 0,5-10 tys. zdrowych dawców [74, 124] oraz przeciwciała terapeutyczne (ThAb) [74]. Rozwój technik biologii molekularnej w latach 90 ub.w. umożliwił sklonowanie genów IgG, co pozwala na wytwarzanie przeciwciał monoklonalnych (mAb) o określonej aktywności w eukariotycznych systemach ekspresyjnych [19]. Projektowanie ThAb jest najszybciej rozwijającą się dziedziną przemysłu farmaceutycznego. W ostatnich trzech dekadach powstało ponad 30 mAb i ich pochodnych, skutecznie stosowanych w różnych chorobach [44, 47]. Wszystkie wykorzystywane terapeutycznie przeciwciała należą do klasy G [59, 118].

Zmiana glikozylacji rekombinowanych przeciwciał terapeutycznych pozwala na manipulowanie ich właściwościami pro- i przeciwzapalnymi. Źródłem wiedzy na temat znaczenia glikozylacji IgG są opisane wyżej badania poświęcone zmianom struktury N-glikanów przeciwciał w chorobach autoimmunizacyjnych oraz roli tych zmian. Właściwości przeciwzapalne ThAb uzyskuje się głównie dzięki obecności SA w N-glikanie fragmentu Fc. Te właściwości można łatwo zmieniać, ponieważ enzymatyczna desjałilacja znosi działanie leków [5, 40, 50]. Nie wielki procent przeciwciał we krwi jest  $\alpha$ 2,6-sjałowany. Ten typ glikozylacji zapewnia potencjał przeciwzapalny IgG, dzięki wspomnianemu wyżej oddziaływaniu przeciwciał z cząsteczkami DC-SIGN na makrofagach, które zwiększa aktywność FcR $\gamma$ -IIb i tłumi odpowiedź immunologiczną. Jest to również jeden z mechanizmów działania IVIg stosowanych klinicznie w leczeniu immunosupresyjnym [114]. Preparaty IVIg o dużej zawartości SA wykazują większą aktywność przeciwzapalną, natomiast desjałilacja IVIg znosi to działanie [1]. Biorąc jeszcze pod uwagę to, że ekspresja sjałotransferazy ST6Gal1, która katalizuje  $\alpha$ 2,6-sjałilację glikanów, jest podwyższona w odpowiedzi na stan zapalny, a jej działanie zmienia aktywację i proliferację komórek, wykorzystanie możliwości zahamowania reakcji autoimmunologicznych z użyciem  $\alpha$ 2,6-sjałowanych IgG uznaje się za dobry kierunek badań terapeutycznych [114].

Oprócz sjałilacji, najistotniejsza w regulacji aktywności IgG jest  $\alpha$ 1,6-fukozyłacja struktury rdzeniowej N-glikanów. Szacuje się, że w warunkach fizjologicznych około 94% przeciwciał IgG surowicy jest fukozyłowanych, co

zapewnia im właściwości przeciwzapalne. Zmniejszenie ilości Fuc w IgG obserwuje się w odpowiedzi immunologicznej przeciwko różnym antygenom w rozwoju wielu chorób [115]. Fukozyłacja przeciwciał jest kluczowa w oddziaływaniu IgG z receptorem Fc $\gamma$ RIIIa, m.in. dlatego, że Fuc modyfikuje funkcje SA. W obecności Fuc rdzeniowej, sjałilacja glikanów Fc powoduje znaczące obniżenie procesu ADCC z udziałem komórek NK. Sjałowane glikofornie zawierające Fuc rdzeniową były 20-krotnie mniej aktywne w porównaniu do glikofornie pozbawionych SA, natomiast sjałilacja nie wpływała na aktywację komórek NK wywołaną defukozyłowanymi glikanami IgG. Tak więc do uzyskania działania przeciwzapalnego przez sjałowane IgG niezbędna jest rdzeniowa fukozyłacja przeciwciał [61]. ThAb ze zmodyfikowaną fukozyłacją są wykorzystywane do leczenia klinicznego. Afukozyłowane przeciwciała są stosowane od 2006 r. w terapii białaczki limfocytowej oraz chłoniaka z obwodowych limfocytów T. W terapii przeciwnowotworowej zastosowanie afukozyłowanych IgG umożliwia stymulację odpowiedzi immunologicznej upośledzonej w chorobach nowotworowych [74].

Do rekombinowanych ThAb wprowadza się również glikany, które nie występują naturalnie we fragmencie Fc IgG, by zmienić nie tylko ich właściwości zapalne, ale aby poprawić również inne parametry. Terapeutyczne IgG zawierające w Fc N-glikany wielomannozowe są usuwane z ludzkiej krwi szybciej niż inne glikofornie IgG [38].

Niewątpliwie dużą trudnością w zaprojektowaniu przeciwciał terapeutycznych jest ich różnorodność, wynikająca ze zmienności fragmentu Fab oraz dodatkowo jego glikozylacji. Dokładne scharakteryzowanie struktury cukrowej również w tym fragmencie jest niezbędne do stworzenia rekombinowanego substytutu IgG o największym potencjale przeciwzapalnym, który znajdzie zastosowanie w chorobach autoimmunizacyjnych [3].

## PODSUMOWANIE

Glikany są mocno zróżnicowaną grupą związków, których struktura dynamicznie zmienia się w zależności od warunków mikrośrodowiska oraz stanu fizjologicznego organizmu. Skład oligosacharydowy glikoprotein, odmienny w rozwoju chorób, jest markerem o wartości porównywalnej do zmian ekspresji i aktywności białek [51]. Glikozylacja IgG jest jednym z elementów wpływających na aktywność tego białka. Modyfikując strukturę N-glikanów można wpływać na procesy indukowane przez IgG, co znalazło zastosowanie w wyciszeniu stanu zapalnego w chorobach autoimmunizacyjnych. Glikozylacja IgG pełni kluczową rolę w patogenezie chorób autoimmunizacyjnych [69]. Zmniejszony poziom galaktozyłacji i sjałilacji IgG jest uznawany za cechę charakterystyczną RA, SLE i CD [92]. Dokładne poznanie profilu cukrowego przeciwciał i znaczenia funkcjonalnego tych zmian w przebiegu chorób autoimmunizacyjnych z pewnością przyczyni się do szybszej diagnostyki tych schorzeń oraz znajdzie zastosowanie w terapii z użyciem rekombinowanych mAb [77, 107].

## PIŚMIENICTWO

- [1] Abès R., Teillaud J.L.: Impact of glycosylation on effector functions of therapeutic IgG. *Pharmaceuticals*, 2010; 3: 146-157
- [2] Anthony R.M., Kobayashi T., Wermeling F., Ravetch J.V.: Intravenous gammaglobulin suppresses inflammation through a novel  $T_H2$  pathway. *Nature*, 2011; 475: 110-113
- [3] Anthony R.M., Nimmerjahn F., Ashline D.J., Reinhold V.N., Paulson J.C., Ravetch J.V.: Recapitulation of IVIG anti-inflammatory activity with a recombinant IgG Fc. *Science*, 2008; 320: 373-376
- [4] Anthony R.M., Wermeling F., Karlsson M.C., Ravetch J.V.: Identification of a receptor required for the anti-inflammatory activity of IVIG. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 19571-19578
- [5] Anthony R.M., Wermeling F., Ravetch J.V.: Novel roles for the IgG Fc glycan. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 2012; 1253: 170-180
- [6] Arnold J.N., Wormald M.R., Sim R.B., Rudd P.M., Dwek R.A.: The impact of glycosylation on the biological function and structure of human immunoglobulins. *Annu. Rev. Immunol.*, 2007; 25: 21-50
- [7] Banda N.K., Takahashi M., Takahashi K., Stahl G.L., Hyatt S., Glogowska M., Wiles T.A., Endo Y., Fujita T., Holers V.M., Arend W.P.: Mechanisms of mannose-binding lectin-associated serine proteases-1/3 activation of the alternative pathway of complement. *Mol. Immunol.*, 2011; 49: 281-289
- [8] Baran T., Boratyńska M.: Immunoregulacyjna rola limfocytów B w odpowiedzi na alloprzeszczep nerki. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2017; 71: 254-266
- [9] Bayry J., Bansal K., Kazatchkine M.D., Kaveri S.V.: DC-SIGN and alpha2,6-sialylated IgG Fc interaction is dispensable for the anti-inflammatory activity of IVIg on human dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: E24
- [10] Biermann M.H., Griffante G., Podolska M.J., Boeltz S., Stürmer J., Muñoz L.E., Bilyy R., Herrmann M.: Sweet but dangerous - the role of immunoglobulin G glycosylation in autoimmunity and inflammation. *Lupus*, 2016; 25: 934-942
- [11] Bondt A., Rombouts Y., Selman M.H., Hensbergen P.J., Reiding K.R., Hazes J.M., Dolhain R.J., Wuhler M.: Immunoglobulin G (IgG) Fab glycosylation analysis using a new mass spectrometric high-throughput profiling method reveals pregnancy-associated changes. *Mol. Cell. Proteomics*, 2014; 13: 3029-3039
- [12] Bondt A., Wuhler M., Kuijper T.M., Hazes J.M., Dolhain R.J.: Fab glycosylation of immunoglobulin G does not associate with improvement of rheumatoid arthritis during pregnancy. *Arthritis Res. Ther.*, 2016; 18: 274
- [13] Borrok M.J., Jung S.T., Kang T.H., Monzingo A.F., Georgiou G.: Revisiting the role of glycosylation in the structure of human IgG Fc. *ACS Chem. Biol.*, 2012; 7: 1596-1602
- [14] Bowden T.A., Baruah K., Coles C.H., Harvey D.J., Yu X., Song B.D., Stuart D.I., Aricescu A.R., Scanlan C.N., Jones E.Y., Crispin M.: Chemical and structural analysis of an antibody folding intermediate trapped during glycan biosynthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, 2012; 134: 17554-17563
- [15] Brooks S.A., Dwek M.V., Schumacher U.: *Functional & molecular glycobiology*. BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford 2002
- [16] Burska A.N., Hunt L., Boissinot M., Strollo R., Ryan B.J., Vital E., Nissim A., Winyard P.G., Emery P., Ponchel F.: Autoantibodies to posttranslational modifications in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm.*, 2014; 2014: 492873
- [17] Buzás E.I., György B., Pásztói M., Jelinek I., Falus A., Gabius H.J.: Carbohydrate recognition systems in autoimmunity. *Autoimmunity*, 2006; 39: 691-704
- [18] Castilho A., Gruber C., Thader A., Oostenbrink C., Pechlaner M., Steinkellner H., Altmann F.: Processing of complex N-glycans in IgG Fc-region is affected by core fucosylation. *MAbs*, 2015; 7: 863-870
- [19] Chames P., van Regenmortel M., Weiss E., Baty D.: Therapeutic antibodies: successes, limitations and hopes for the future. *Br. J. Pharmacol.*, 2009; 157: 220-233
- [20] Chardès T., Chapel N., Bresson D., Bès C., Giudicelli V., Lefranc M.P., Péraldi-Roux S.: The human anti-thyroid peroxidase autoantibody repertoire in Graves' and Hashimoto's autoimmune thyroid diseases. *Immunogenetics*, 2002; 54: 141-157
- [21] Chen G., Wang Y., Qin X., Li H., Guo Y., Wang Y., Liu H., Wang X., Song G., Li F., Li F., Guo S., Qiu L., Li Z.: Change in IgG1 Fc N-linked glycosylation in human lung cancer: age- and sex-related diagnostic potential. *Electrophoresis*, 2013; 34: 2407-2416
- [22] Chen H.Y., Fermin A., Vardhana S., Weng I.C., Lo K.F., Chang E.Y., Maverakis E., Yang R.Y., Hsu D.K., Dustin M.L., Liu F.T.: Galectin-3 negatively regulates TCR-mediated CD4+ T-cell activation at the immunological synapse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 14496-14501
- [23] Chistiakov D.A.: Immunogenetics of Hashimoto's thyroiditis. *J. Autoimmune Dis.*, 2005; 2: 1
- [24] Chou C.T.: Binding of rheumatoid and lupus synovial fluids and sera-derived human IgG rheumatoid factor to degalactosylated IgG. *Arch. Med. Res.*, 2002; 33: 541-544
- [25] Collin M., Ehlers M.: The carbohydrate switch between pathogenic and immunosuppressive antigen-specific antibodies. *Exp. Dermatol.*, 2013; 22: 511-514
- [26] Coloma M.J., Trinh R.K., Martinez A.R., Morrison S.L.: Position effects of variable region carbohydrate on the affinity and in vivo behavior of an anti-(1<sup>6</sup>) dextran antibody. *J. Immunol.*, 1999; 162: 2162-2170
- [27] Conrad K., Roggenbuck D., Reinhold D., Dörner T.: Profiling of rheumatoid arthritis associated autoantibodies. *Autoimmun. Rev.*, 2010; 9: 431-435
- [28] Czerwiński M., Krop-Waterek A.: Ciężkołańcuchowe przeciwciała zwierząt z rodziny wielbłądowatych (Camelidae) i ich możliwe zastosowania. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 193-202
- [29] Dema B., Charles N.: Advances in mechanisms of systemic lupus erythematosus. *Discov. Med.*, 2014; 17: 247-255
- [30] Dema B., Charles N.: Autoantibodies in SLE: specificities, isotypes and receptors. *Antibodies*, 2016; 5: 2
- [31] Demetriou M., Granovsky M., Quaggin S., Dennis J.W.: Negative regulation of T-cell activation and autoimmunity by Mgat5 N-glycosylation. *Nature*, 2001; 409: 733-739
- [32] Epp A., Sullivan K.C., Herr A.B., Strait R.T.: Immunoglobulin glycosylation effects in allergy and immunity. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 2016; 16: 79
- [33] Ferrara C., Stuart F., Sonderrmann P., Brunker P., Umana P.: The carbohydrate at FcγRIIIa Asn-162. An element required for high affinity binding to non-fucosylated IgG glycoforms. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 5032-5036
- [34] Geijtenbeek T.B., van Vliet S.J., Engering A., Hart B.A., van Kooyk Y.: Self- and nonself-recognition by C-type lectins on dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2004; 22: 33-54
- [35] Gińdzieńska-Sieśkiewicz E., Klimiuk P.A., Domysławska I., Sierakowski S.: Zaburzenia immunoglobuliny G w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 485-489
- [36] Gindzińska-Sieśkiewicz E., Klimiuk P.A., Kisiel D.G., Gindzińska A., Sierakowski S.: The changes in monosaccharide composition



- of immunoglobulin G in the course of rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.*, 2007; 26: 685-690
- [37] Gińdzieńska-Sieškiewicz E., Radziejewska I., Domysławska I., Klimiuk P.A., Sulik A., Rojewska J., Gabryel-Porowska H., Sierakowski S.: Changes of glycosylation of IgG in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate. *Adv. Med. Sci.*, 2016; 61: 193-197
- [38] Goetze A.M., Liu Y.D., Zhang Z., Shah B., Lee E., Bondarenko P.V., Flynn G.C.: High-mannose glycans on the Fc region of therapeutic IgG antibodies increase serum clearance in humans. *Glycobiology*, 2011; 21: 949-959
- [39] Gómara M.J., Haro I.: Citrullinated peptides in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2013; 13: 743-751
- [40] Gornik O., Pavić T., Lauc G.: Alternative glycosylation modulates function of IgG and other proteins - implications on evolution and disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012; 1820: 1318-1326
- [41] Goulabchand R., Vincent T., Batteux F., Eliaou J.F., Guilpain P.: Impact of autoantibody glycosylation in autoimmune diseases. *Autoimmun. Rev.*, 2014; 13: 742-750
- [42] Grigorian A., Demetriou M.: Mgat5 deficiency in T cells and experimental autoimmune encephalomyelitis. *ISRN. Neurol.*, 2011; 2011: 374314
- [43] Hafkenschied L., Bondt A., Scherer H.U., Huizinga T.W., Wuhrer M., Toes R.E., Rombouts Y.: Structural analysis of variable domain glycosylation of anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis reveals the presence of highly sialylated glycans. *Mol. Cell. Proteomics*, 2017; 16: 278-287
- [44] Hristodorov D., Fischer R., Linden L.: With or without sugar? (A)glycosylation of therapeutic antibodies. *Mol. Biotechnol.*, 2013; 54: 1056-1068
- [45] Huang C., Liu Y., Wu H., Sun D., Li Y.: Characterization of IgG glycosylation in rheumatoid arthritis patients by MALDI-TOF-MS<sup>n</sup> and capillary electrophoresis. *Anal. Bioanal. Chem.* 2017; 409: 3731-3739
- [46] Iida S., Misaka H., Inoue M., Shibata M., Nakano R., Yamane-Ohnuki N., Wakitani M., Yano K., Shitara K., Satoh M.: Nonfucosylated therapeutic IgG1 antibody can evade the inhibitory effect of serum immunoglobulin G on antibody-dependent cellular cytotoxicity through its high binding to FcγRIIIa. *Clin. Cancer Res.*, 2006; 12: 2879-2887
- [47] Irani V., Guy A.J., Andrew D., Beeson J.G., Ramsland P.A., Richards J.S.: Molecular properties of human IgG subclasses and their implications for designing therapeutic monoclonal antibodies against infectious diseases. *Mol. Immunol.*, 2015; 67:171-182
- [48] Jones M.B., Oswald D.M., Joshi S., Whiteheart S.W., Orlando R., Cobb B.A.: B-cell-independent sialylation of IgG. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2016; 113: 7207-7212
- [49] Kaneko Y., Nimmerjahn F., Ravetch J.V.: Anti-inflammatory activity of immunoglobulin G resulting from Fc sialylation. *Science*, 2006; 313: 670-673
- [50] Kaveri S.V., Lacroix-Desmazes S., Bayry J.: The antiinflammatory IgG. *N. Engl. J. Med.*, 2008; 359: 307-309
- [51] Kempers A.C., Hafkenschied L., Scherer H.U., Toes R.E.: Variable domain glycosylation of ACPA-IgG: A missing link in the maturation of the ACPA response? *Clin. Immunol.*, 2018; 186: 34-37
- [52] Khan F.A., Al-Jameil N., Khan M.F., Al-Rashid M., Tabassum H.: Thyroid dysfunction: an autoimmune aspect. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2015; 8: 6677-6681
- [53] Klareskog L., Rönnelid J., Lundberg K., Padyukov L., Alfredsson L.: Immunity to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Annu. Rev. Immunol.*, 2008; 26: 651-675
- [54] Klaska I., Nowak J.Z.: Rola układu dopełniacza w fizjologii i patologii. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 167-177
- [55] Klonowska-Szymczyk A., Robak E.: Współczesne poglądy na etiopatogenezę układowego tocznia rumieniowatego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 683-703
- [56] Knopf J., Biermann M.H.C., Muñoz L.E., Herrmann M.: Antibody glycosylation as a potential biomarker for chronic inflammatory autoimmune diseases. *AIMS Genetics*, 2016; 3: 280-291
- [57] Krotkiewski H.: Carbohydrate moiety of immunoglobulins in health and pathology. *Acta Biochim. Pol.*, 1999; 46: 341-350
- [58] Lauc G., Huffman J.E., Pučić M., Zgaga L., Adamczyk B., Mužinić A., Novokmet M., Polašek O., Gornik O., Krištić J., Keser T., Vitart V., Scheijen B., Uh H.W., Molokhia M. i wsp.: Loci associated with N-glycosylation of human immunoglobulin G show pleiotropy with autoimmune diseases and haematological cancers. *PLoS. Genet.*, 2013; 9: e1003225
- [59] Le N.P., Bowden T.A., Struwe W.B., Crispin M.: Immune recruitment or suppression by glycan engineering of endogenous and therapeutic antibodies. *Biochim. Biophys. Acta*, 2016; 1860: 1655-1668
- [60] Li L., Paul S., Tyutyulkova S., Kazatchkine M.D., Kaveri S.: Catalytic activity of anti-thyroglobulin antibodies. *J. Immunol.*, 1995; 154: 3328-3332
- [61] Li T., DiLillo D.J., Bournazos S., Giddens J.P., Ravetch J.V., Wang L.X.: Modulating IgG effector function by Fc glycan engineering. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2017; 114: 3485-3490
- [62] Li W., Yu R., Ma B., Yang Y., Jiao X., Liu Y., Cao H., Dong W., Liu L., Ma K., Fukuda T., Liu Q., Ma T., Wang Z., Gu J., Zhang J., Taniguchi N.: Core fucosylation of IgG B cell receptor is required for antigen recognition and antibody production. *J. Immunol.*, 2015; 194: 2596-2606
- [63] Liu M., Zhao L., Gao Y., Huang Y., Lu G., Guo X.: Epitope recognition patterns of thyroglobulin antibody in sera from patients with Hashimoto's thyroiditis on different thyroid functional status. *Clin. Exp. Immunol.*, 2012; 170: 283-290
- [64] Lood C., Allhorn M., Lood R., Gullstrand B., Olin AI., Rönnblom L., Truedsson L., Collin M., Bengtsson A.A.: IgG glycan hydrolysis by endoglycosidase S diminishes the proinflammatory properties of immune complexes from patients with systemic lupus erythematosus: a possible new treatment? *Arthritis Rheum.*, 2012; 64: 2698-2706
- [65] Łacka K., Maciejewski A.: Współczesne poglądy na temat etiopatogenezy autoimmunologicznego zapalenia tarczycy (choroby Hashimoto). *Pol. Merkur. Lekarski*, 2011; 30: 132-138
- [66] Magorivska I., Muñoz L.E., Janko C., Dumych T., Rech J., Schett G., Nimmerjahn F., Bilyy R., Herrmann M.: Sialylation of anti-histone immunoglobulin G autoantibodies determines their capabilities to participate in the clearance of late apoptotic cells. *Clin. Exp. Immunol.*, 2016; 184: 110-117
- [67] Marth J.D., Grewal P.K.: Mammalian glycosylation in immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008; 8: 874-887
- [68] Martin T.C., Šimurina M., Ząbczyńska M., Martinić Kavr M., Rydlewska M., Pezer M., Kozłowska K., Burri A., Vilaj M., Turek-Jabrocka R., Krnjajić-Tadijanović M., Trofimiuk-Müldner M., Lityńska A., Hubalewska-Dydejczyk A., Trbojević-Akmačić I., Mun Lim E., Walsh J.P., Pocheć E., Spector T.D., Wilson S.G., Lauc G.: Decreased IgG core fucosylation, a player in antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, is associated with autoimmune thyroid diseases. <http://biorxiv.org/cgi/content/short/362004v1>, doi.org/10.1101/3620
- [69] Mastrangelo A., Colasanti T., Barbati C., Pecani A., Sabatinelli D., Pendolino M., Truglia S., Massaro L., Mancini R., Miranda F., Spinelli F.R., Conti F., Alessandri C.: The role of posttranslational protein modifications in rheumatological diseases: focus on rheumatoid arthritis. *J. Immunol. Res.*, 2015; 2015: 712490
- [70] Maverakis E., Kim K., Shimoda M., Gershwin M.E., Patel F., Wilken R., Raychaudhuri S., Ruhaak L.R., Lebrilla C.B.: Glycans in the immune system and The Altered Glycan Theory of Autoimmunity: a critical review. *J. Autoimmun.*, 2015; 57: 1-13

- [71] McLachlan S.M., Rapoport B.: Genetic and epitopic analysis of thyroid peroxidase (TPO) autoantibodies: markers of the human thyroid autoimmune response. *Clin. Exp. Immunol.*, 1995; 101: 200-206
- [72] Medzhitov R., Janeway C.A. Jr.: Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science*, 2002; 296: 298-300
- [73] Metcalfe R.A., Oh Y.S., Stroud C., Arnold K., Weetman A.P.: Analysis of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity*, 1997; 25: 65-72
- [74] Mimura Y., Katoh T., Saldova R., O'Flaherty R., Izumi T., Mimura-Kimura Y., Utsunomiya T., Mizukami Y., Yamamoto K., Matsumoto T., Rudd P.M.: Glycosylation engineering of therapeutic IgG antibodies: challenges for the safety, functionality and efficacy. *Protein Cell*, 2018; 9: 47-62
- [75] Mimura Y., Sondermann P., Ghirlando R., Lund J., Young S.P., Goodall M., Jefferis R.: Role of oligosaccharide residues of IgG1-Fc in Fc gamma RIIb binding. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 45539-45547
- [76] Moremen K.W., Tiemeyer M., Nairn A.V.: Vertebrate protein glycosylation: diversity, synthesis and function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2012; 13: 448-462
- [77] Nakajima S., Iijima H., Shinzaki S., Egawa S., Inoue T., Mukai A., Hayashi Y., Kondo J., Akasaka T., Nishida T., Kanto T., Morii E., Mizushima T., Miyoshi E., Tsujii M., Hayashi N.: Functional analysis of agalactosyl IgG in inflammatory bowel disease patients. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2011; 17: 927-936
- [78] Nimmerjahn F., Gordan S., Lux A.: FcγR dependent mechanisms of cytotoxic, agonistic, and neutralizing antibody activities. *Trends Immunol.*, 2015; 36: 325-336
- [79] Pasek M., Duk M., Podbielska M., Sokolik R., Szechiński J., Lisowska E., Krotkiewski H.: Galactosylation of IgG from rheumatoid arthritis (RA) patients - changes during therapy. *Glycoconj. J.*, 2006; 23: 463-471
- [80] Pierce S.K.: Lipid rafts and B-cell activation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2002; 2: 96-105
- [81] Plomp R., Dekkers G., Rombouts Y., Visser R., Koeleman C.A., Kammeijer G.S., Jansen B.C., Rispens T., Hensbergen P.J., Vidarsson G., Wuhler M.: Hinge-region O-glycosylation of human immunoglobulin G3 (IgG3). *Mol. Cell. Proteomics*, 2015; 14: 1373-1384
- [82] Podolska M.J., Biermann M.H., Maueröder C., Hahn J., Herrmann M.: Inflammatory etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus: an update. *J. Inflamm. Res.*, 2015; 8: 161-171
- [83] Polak K., Pocheć E.: Glikoproteiny układu odpornościowego: struktura i funkcja części cukrowej wybranych receptorów błonowych limfocytów T. Część I. *Postępy Biol. Kom.*, 2017; 44: 185-200
- [84] Polak K., Pocheć E.: Glikoproteiny układu odpornościowego: rola glikanów antygenów zgodności tkankowej (MHC) oraz znaczenie galektyn w aktywacji i apoptozie limfocytów T. Część II. *Postępy Biol. Kom.*, 2017; 44: 251-272
- [85] Pucić M., Knezević A., Vidic J., Adamczyk B., Novokmet M., Polasek O., Gornik O., Supraha-Goreta S., Wormald M.R., Redzić I., Campbell H., Wright A., Hastie N.D., Wilson J.F., Rudan I. i wsp.: High throughput isolation and glycosylation analysis of IgG-variability and heritability of the IgG glycome in three isolated human populations. *Mol. Cell. Proteomics*, 2011; 10: M111.010090
- [86] Rabinovich G.A., van Kooyk Y., Cobb B.A.: Glycobiology of immune responses. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2012; 1253: 1-15
- [87] Raju T.S.: Terminal sugars of Fc glycans influence antibody effector functions of IgGs. *Curr. Opin. Immunol.*, 2008; 20: 471-478
- [88] Rebuffat S.A., Nguyen B., Robert B., Castex F., Peraldi-Roux S.: Antithyroperoxidase antibody-dependent cytotoxicity in autoimmune thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008; 93: 929-934
- [89] Rombouts Y., Willemze A., van Beers J.J., Shi J., Kerkman P.F., van Toorn L., Janssen G.M., Zaldumbide A., Hoebe R.C., Pruijn G.J., Deelder A.M., Wolbink G., Rispens T., van Veelen P.A., Huizinga T.W., Wuhler M., Trouw L.A., Scherer H.U., Toes R.E.: Extensive glycosylation of ACPA-IgG variable domains modulates binding to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2016; 75: 578-585
- [90] Scherer H.U., van der Woude D., Ioan-Facsinay A., el Bannoudi H., Trouw L.A., Wang J., Häupl T., Burmester G.R., Deelder A.M., Huizinga T.W., Wuhler M., Toes R.E.: Glycan profiling of anti-citrullinated protein antibodies isolated from human serum and synovial fluid. *Arthritis Rheum.*, 2010; 62: 1620-1629
- [91] Schnaar R.L.: Glycans and glycan-binding proteins in immune regulation: A concise introduction to glycobiology for the allergist. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2015; 135: 609-615
- [92] Seeling M., Brückner C., Nimmerjahn F.: Differential antibody glycosylation in autoimmunity: sweet biomarker or modulator of disease activity? *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2017; 13: 621-630
- [93] Sędek Ł., Mazur B.: Przeciwciała monoklonalne i poliklonalne i ich zastosowanie w cytometrii przepływowej. *Postępy Biol. Kom.*, 2008; 35: 17-34
- [94] Shade K.T.C., Anthony R.M.: Antibody glycosylation and inflammation. *Antibodies*, 2013; 2: 392-414
- [95] Shields R.L., Lai J., Keck R., O'Connell L.Y., Hong K., Meng Y.G., Weikert S.H., Presta L.G.: Lack of fucose on human IgG1 N-linked oligosaccharide improves binding to human FcγRIII and antibody-dependent cellular toxicity. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 26733-26740
- [96] Shin K., Hong S., Choi E.H., Lim M.K., Shim S.C., Ju J.H., Lee S.H.: Role of citrullinated fibrinogen peptides in the activation of CD4 T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Immune. Netw.*, 2013; 13: 116-122
- [97] Shinkawa T., Nakamura K., Yamane N., Shoji-Hosaka E., Kanda Y., Sakurada M., Uchida K., Anazawa H., Satoh M., Yamasaki M., Hanai N., Shitara K.: The absence of fucose but not the presence of galactose or bisecting N-acetylglucosamine of human IgG1 complex-type oligosaccharides shows the critical role of enhancing antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 3466-3473
- [98] Shinzaki S., Iijima H., Nakagawa T., Egawa S., Nakajima S., Ishii S., Irie T., Kakiuchi Y., Nishida T., Yasumaru M., Kanto T., Tsujii M., Tsuji S., Mizushima T., Yoshihara H., Kondo A., Miyoshi E., Hayashi N.: IgG oligosaccharide alterations are a novel diagnostic marker for disease activity and the clinical course of inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.*, 2008; 103: 1173-1181
- [99] Shinzaki S., Kuroki E., Iijima H., Tatsunaka N., Ishii M., Fujii H., Kamada Y., Kobayashi T., Shibukawa N., Inoue T., Tsujii M., Takeishi S., Mizushima T., Ogata A., Naka T., Plevy S.E., Takehara T., Miyoshi E.: Lectin-based immunoassay for aberrant IgG glycosylation as the biomarker for Crohn's disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2013; 19: 321-331
- [100] Sjöwall C., Zapf J., von Löhneysen S., Magorivska I., Biermann M., Janko C., Winkler S., Bilyy R., Schett G., Herrmann M., Muñoz LE.: Altered glycosylation of complexed native IgG molecules is associated with disease activity of systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 2015; 24: 569-581
- [101] Surman M., Janik M.: Regulacja procesu glikozylacji białek przez kaskadę cAMP. *Postępy Biochem.*, 2014; 60: 305-312
- [102] Szekanecz Z., Soós L., Szabó Z., Fekete A., Kapitány A., Végvári A., Sipka S., Szücs G., Szántó S., Lakos G.: Anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: as good as it gets? *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2008; 34: 26-31
- [103] Świerkot J., Nowak B., Czarny A., Zaczynska E., Sokolik R., Madej M., Korman L., Sebastian A., Wojtala P., Lubiński Ł., Wiland P.: The activity of JAK/STAT and NF-κB in patients with rheumatoid arthritis. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2016; 25: 709-717
- [104] Theodoratou E., Campbell H., Ventham N.T., Kolarich D., Pucić-

- Baković M., Zoldoš V., Fernandes D., Pemberton I.K., Rudan I., Kennedy N.A., Wuhler M., Nimmo E., Annese V., McGovern D.P., Satsangi J., Lauc G.: The role of glycosylation in IBD. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2014; 11:588-600
- [105] Tomana M., Schrohenloher R.E., Koopman W.J., Alarcón G.S., Paul W.A.: Abnormal glycosylation of serum IgG from patients with chronic inflammatory diseases. *Arthritis Rheum.*, 1988; 31: 333-338
- [106] Tototoson P., Maguin-Gate K., Prati C., Vendling D., Demougeot C.: Mechanisms of endothelial dysfunction in rheumatoid arthritis: lessons from animal studies. *Arthritis Res. Ther.*, 2014; 16: 202-209
- [107] Trbojević Akmačić I., Ventham N.T., Theodoratou E., Vučković F., Kennedy N.A., Krištić J., Nimmo E.R., Kalla R., Drummond H., Štambuk J., Dunlop M.G., Novokmet M., Aulchenko Y., Gornik O., Campbell H., Pučić Baković M., Satsangi J., Lauc G.: Inflammatory bowel disease associates with proinflammatory potential of the immunoglobulin G glycome. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2015; 21: 1237-1247
- [108] Umaña P., Jean-Mairet J., Moudry R., Amstutz H., Bailey J.E.: Engineered glycoforms of an antineuroblastoma IgG1 with optimized antibody-dependent cellular cytotoxic activity. *Nat. Biotechnol.*, 1999; 17: 176-180
- [109] van de Bovenkamp F.S., Hafkenscheid L., Rispens T., Rombouts Y.: The emerging importance of IgG Fab glycosylation in immunity. *J. Immunol.*, 2016; 196: 1435-1441
- [110] van de Geijn F.E., Wuhler M., Selman M.H., Willemsen S.P., de Man Y.A., Deelder A.M., Hazes J.M., Dolhain R.J.: Immunoglobulin G galactosylation and sialylation are associated with pregnancy-induced improvement of rheumatoid arthritis and the postpartum flare: results from a large prospective cohort study. *Arthritis Res. Ther.*, 2009; 11: R193
- [111] van Dyken S.J., Locksley R.M.: Autoimmunity: altered self-N-glycans trigger innate-mediated autoimmunity. *Immunol. Cell Biol.*, 2007; 85: 572-574
- [112] van Vliet S.J., Saeland E., van Kooyk Y.: Sweet preferences of MGL: carbohydrate specificity and function. *Trends Immunol.*, 2008; 29: 83-90
- [113] Varki A.: Since there are PAMPs and DAMPs, there must be SAMPs? Glycan "self-associated molecular patterns" dampen innate immunity, but pathogens can mimic them. *Glycobiology*, 2011; 21: 1121-1124
- [114] Varki A., Gagneux P.: Multifarious roles of sialic acids in immunity. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2012; 1253: 16-36
- [115] Vidarsson G., Dekkers G., Rispens T.: IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front. Immunol.*, 2014; 5: 520
- [116] Visser H., le Cessie S., Vos K., Breedveld F.C., Hazes J.M.: How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2002; 46: 357-365
- [117] Vučković F., Krištić J., Gudelj I., Teruel M., Keser T., Pezer M., Pučić-Baković M., Štambuk J., Trbojević-Akmačić I., Barrios C., Pavić T., Menni C., Wang Y., Zhou Y., Cui L. i wsp.: Association of systemic lupus erythematosus with decreased immunosuppressive potential of the IgG glycome. *Arthritis Rheumatol.*, 2015; 67: 2978-2989
- [118] Wang W., Wang E.Q., Balthasar J.P.: Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2008; 84: 548-558
- [119] Wootla B., Lacroix-Desmazes S., Warrington A.E., Bieber A.J., Kaveri S.V., Rodriguez M.: Autoantibodies with enzymatic properties in human autoimmune diseases. *J. Autoimmun.*, 2011; 37: 144-150
- [120] Xu C., Ng D.T.: Glycosylation-directed quality control of protein folding. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2015; 16: 742-752
- [121] Yamada R., Suzuki A., Chang X., Yamamoto K.: Citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Front. Biosci.*, 2005; 10: 54-64
- [122] Yuan S., Li Q., Zhang Y., Huang C., Wu H., Li Y., Liu Y., Yu N., Zhang H., Lu G., Gao Y., Gao Y., Guo X.: Changes in anti-thyroglobulin IgG glycosylation patterns in Hashimoto's thyroiditis patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2015; 100: 717-724
- [123] Zauner G., Selman M.H., Bondt A., Rombouts Y., Blank D., Deelder A.M., Wuhler M.: Glycoproteomic analysis of antibodies. *Mol. Cell. Proteomics*, 2013; 12: 856-865
- [124] Ząbczyńska M., Pocheć E.: Rola glikozylacji białek układu odpornościowego. *Postępy Biochem.*, 2015; 61: 129-137
- [125] Zhao L., Liu M., Gao Y., Huang Y., Lu G., Gao Y., Guo Y., Shi B.: Glycosylation of sera thyroglobulin antibody in patients with thyroid diseases. *Eur. J. Endocrinol.*, 2013; 168: 585-592
- [126] Zhou Q.: The impact beyond recombinant antibody: recent advances in understanding the disease associated glycan alterations in endogenous antibodies. *J. Biochem. Mol. Biol. Res.*, 2016; 2: 170-172

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.